

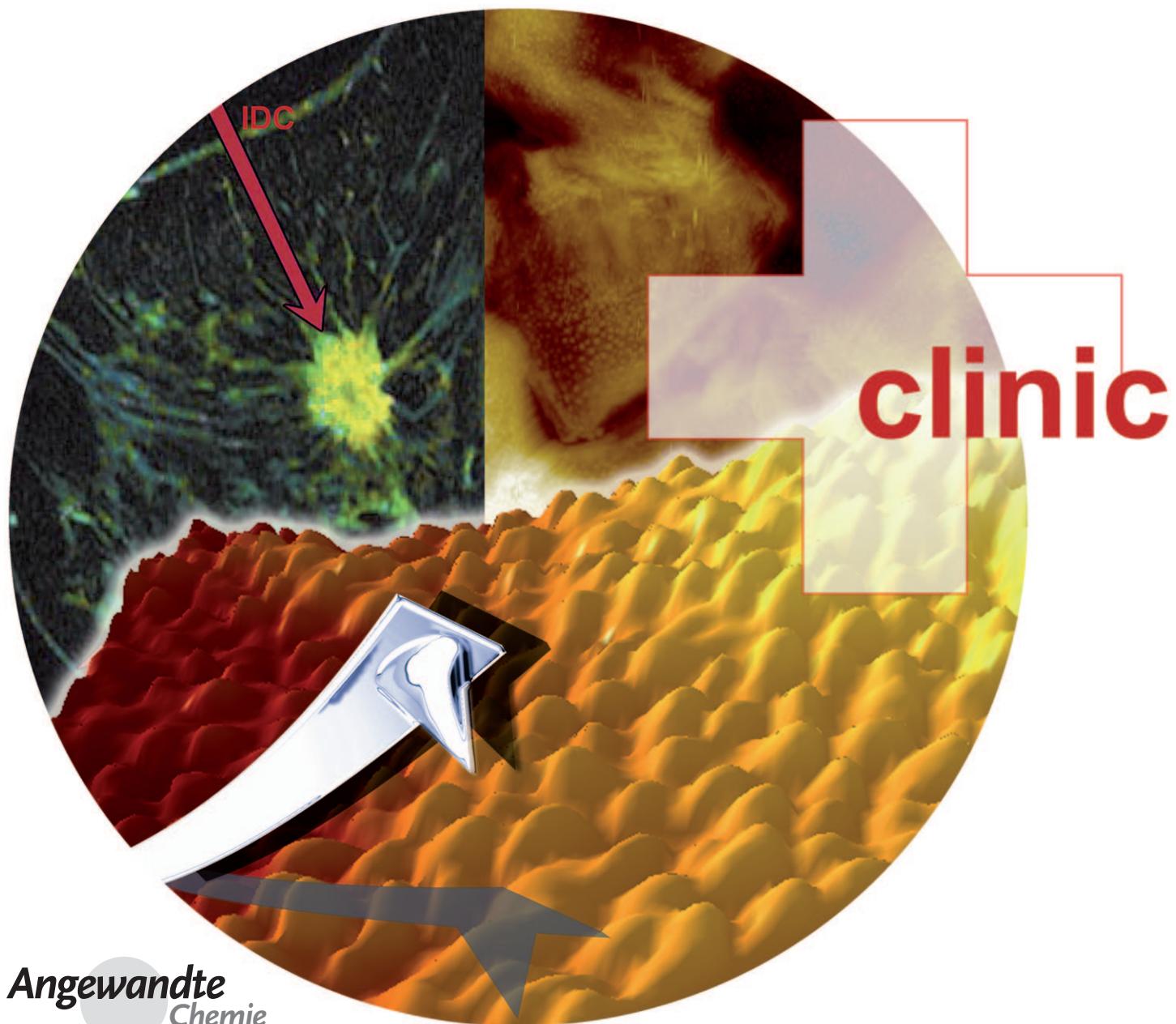
Nanomedizin – Herausforderung und Perspektiven

Kristina Riehemann,* Stefan W. Schneider, Thomas A. Luger, Biana Godin,
Mauro Ferrari und Harald Fuchs*

Stichwörter:

Individuelle Medizin · Nanosonden ·

Nanotechnologie · Theranostik



Die Anwendung nanotechnologischer Konzepte in der Medizin verbindet zwei große interdisziplinäre Wissenschaftsgebiete mit einem beispiellosen sozialen und ökonomischen Potenzial. Diese Nanomedizin nutzt die Errungenschaften beider Forschungsfelder, wobei die gemeinsame Basis die Untersuchung spezifischer Eigenschaften auf der Molekülebene ist. Mithilfe lokaler Sonden und molekularer Bildgebungstechniken können Oberflächen- und Grenzflächeneigenschaften auf der Nanometerskala an vorgegebenen Messpunkten charakterisiert werden, während es mit chemischen Methoden gelingt, Oberflächen kontrolliert zu modifizieren und zu adressieren. Beispiele hierfür sind neuartige Konzepte für den gezielten Wirkstofftransport, die Biokompatibilitätsoptimierung und neuroprothetische Anwendungen. Allerdings sind im Hinblick auf toxikologische sowie ethische Aspekte dieser Querschnittsdisziplin noch viele Fragen offen. Hier werden ausgewählte Entwicklungen und Anwendungen der Nanomedizin besprochen.

1. Einleitung

Es ist ein alter Traum der Naturwissenschaften, Materie gezielt auf der Atom- oder Molekülebene zu manipulieren. Ausgehend von der berühmten Rede von Richard Feynman auf dem Jahrestreffen der amerikanischen physikalischen Gesellschaft im Jahre 1959, in der er die Vision der Manipulation von Stoffen auf der Atomebene postulierte, hat sich die Nanowissenschaft seither über die Entwicklung der Molekularstrahlepitaxie im Jahre 1968 in den Bell-Laboratorien, die Erzeugung von Nanoteilchen und die Erfindung der Rastertunnelmikroskopie (STM) als ein weithin akzeptiertes Wissenschaftsgebiet etabliert.^[1-3] Der alte Traum ist in einigen Bereichen der Nanowissenschaften bereits wahr geworden. Die neuen Möglichkeiten haben heute praktisch alle Technologiebereiche erreicht, angefangen von optischen Systemen über chemische Industrie, Elektro- und Automobilindustrie bis hin zu Umwelttechnik und Medizin. „Intelligente“ Oberflächenbeschichtungen und Nanomaterialien, schnellere Elektronik, leistungsfähigere Optik, Biosensoren und Nantomotoren sind nur einige Beispiele aus diesem transdisziplinären Gebiet. Obwohl die Nanotechnologie noch in ihren Kinderschuhen steckt, belegen diese ersten praktischen Anwendungsmöglichkeiten schon eindeutig ihr großes Potenzial.

Zur gleichen Zeit steht die Medizin vor äußerst komplexen wissenschaftlichen, aber auch gesellschaftlichen und ethischen Herausforderungen. Insbesondere durch die zunehmende Lebenserwartung werden bestimmte Krankheiten in den nächsten Jahren große sozioökonomische Konsequenzen haben. Das junge Gebiet der Nanomedizin ist geeignet, einige dieser komplexen Fragen zu beantworten.

1.1. Definition

Für den Begriff „Nanotechnologie“ [von lateinisch *nanus*, griechisch *nanos*: Zwerg] liefert die Literatur eine Vielzahl

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	887
3. Nanotechnologie in der Therapie – Forschung und Entwicklung	898
4. Klinische Anwendungen	900
5. Nanobeschichtungen und nanostrukturierte Oberflächen für medizinische Anwendungen	905
6. Biokompatibilität und Toxizität – Sicherheitsfragen beim Einsatz von Nanotechnologie	906
7. Zusammenfassung und Ausblick	908

von Definitionen, die alle ihre Berechtigung und ihre Einschränkungen haben. Ganz allgemein beschäftigt sich die Nanotechnologie mit Dimensionen und Toleranzgrenzen von 0.1–100 nm und mit der Manipulation einzelner Atome und Moleküle. Eine etwas spezifischere Definition wurde im Jahre 2000 durch die US National Nanotechnology Initiative gegeben: „Nanotechnologie befasst sich mit Materialien und Systemen, deren Strukturen und Komponenten neuartige und signifikant verbesserte physikalische, chemische und biologische Eigenschaften sowie Phänomene und Prozesse aufweisen, die durch ihre nanoskalige Größe bedingt sind“. Die Reduktion der Größe verleiht Nanomaterialien augenscheinlich qualitativ neue und vorteilhafte Eigenschaften.^[4-6] Einer allgemeineren Definition zufolge verbindet die Nanotechnologie die folgenden Aspekte: ein Gesamtsystem oder wesentliche Komponenten mit nanoskaligen Dimensionen,

[*] Dr. K. Riehemann, Prof. Dr. H. Fuchs
 Center for Nanotechnology (CeNTech) und Physikalisches Institut
 Westfälische Wilhelms-Universität Münster
 Wilhelm-Klemm-Straße 10, 48149 Münster (Deutschland)
 Fax: (+ 49) 251-83-33602
 E-Mail: k.riehemann@uni-muenster.de
 Homepage: <http://www.uni-muenster.de/Physik.PI/Fuchs/>
 Prof. Dr. S. W. Schneider
 Universitätsklinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
 Mannheim
 Universitätsklinikum und Medizinische Fakultät Mannheim
 Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
 Theodor-Kutzer-Ufer 1–3, 68135 Mannheim (Deutschland)
 Prof. Dr. T. A. Luger
 Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten
 Von-Esmarch-Straße 58, 48149 Münster (Deutschland)
 Dr. B. Godin, Prof. Dr. M. Ferrari
 Division of Nanomedicine
 Department of Biomedical Engineering
 University of Texas Health Science Center at Houston
 Houston, TX, 77030 (USA)

synthetische Materialien und einzigartige Eigenschaften, die durch die nanoskalige Größe entstehen.^[7]

Zusammenfassend beschreibt die Nanotechnologie folgende physikalische und chemische Schlüsselthemen:

- Das Auftreten neuer physikalischer Eigenschaften, die für die Nanoskala charakteristisch sind,
- die Analyse auf Atom- und Molekülebene an frei wählbaren Positionen,
- die gezielte Adressierung einzelner Atome und Moleküle und
- die Erzeugung komplexer funktioneller Systeme mit neuartigen Eigenschaften (Emergenz).

Um das Gebiet der Nanomedizin im Weiteren zu diskutieren, führen wir zunächst eine Abgrenzung zur molekularen Medizin, Biochemie und Nanobiotechnologie ein.

Obwohl in bestimmten Bereichen verwandt, unterscheidet sich die Nanomedizin grundsätzlich von der Nanobiotechnologie. Während die Nanomedizin sich auf die Anwendung nanotechnologischer Konzepte für medizinische Zwecke beschränkt, umfasst die Nanobiotechnologie die gesamte Grundlagenforschung auf Nanometerebene in biologischen Systemen, z.B. auch die Untersuchung von Pflanzen. Die molekulare Medizin wiederum geht von einem eher konventionellen biochemischen Ansatz aus.

Im Unterschied zu klassischen Therapieansätzen – Chirurgie, Bestrahlung und Chemotherapie – die vom Grundsatz her erkrankte Zellen schneller entfernen als gesunde, sucht die Nanomedizin nach ausgefeilten Verfahren, in denen

Zellschädigungen mithilfe von Biosensoren detektiert und die Zellen dann entweder spezifisch abgetötet oder Zelle für Zelle durch eine gezielte Wirkstoffausschüttung behandelt werden. In der Nanomedizin werden also nicht nur nanotechnologische Konzepte verwendet und angepasst, sondern im Gegenzug werden auch neue Aufgabenfelder für die Nanotechnologie erschlossen, sodass sich die beiden Felder gemeinsam weiterentwickeln.

Ein Ziel ist das Design mehrstufiger molekularer Aggregate mit neuartigen funktionellen und dynamischen Eigenschaften, die für medizinische Anwendungen geeignet sind. Hierbei wird sowohl von großen- als auch ortsspezifischen Eigenschaften dieser Systeme Gebrauch gemacht, die für die Nano- und Mesoskala charakteristisch sind. Der Ansatz bietet auch neue Möglichkeiten im Hinblick auf die Entwicklung einer individuellen Medizin, die folgendermaßen umschrieben wurde: „*Ein Konzept, das im klinischen Bereich in den kommenden Dekaden zu erwarten ist. Genomik und Proteomik werden hier genutzt, um die optimale Pharmakotherapie für jeden einzelnen Patienten maßzuschneidern; basierend auf individueller (genetischer) Profilierung wird beabsichtigt, eine verbesserte Wirksamkeit der Behandlung für viele Krankheiten zu erreichen.*“^[8] Um Nebenwirkungen durch die Überdosierung von Pharmaka zu vermeiden, bietet sich eine effiziente Medikation durch selektives Targeting an. Entwicklungen in der Proteomik und Genomik zeigen bereits Perspektiven in diese Richtung – die pharmakologische Therapie wird hier für ein individuelles genetisches Profil maßgeschneidert. Die Nanomedizin verspricht Alternativen



Kristina Riehemann studierte Biologie und Physik an der Universität Münster. Sie war „Junior Gruppenleiterin“ im Institut für Medizinische Biochemie am Zentrum für Molekularbiologie der Entzündung mit dem Forschungsschwerpunkt „Antientzündliche Mechanismen“. Anschließend war sie Gründungsmitglied und Koordinatorin der „Integrierten funktionellen Genomik“, einer Serviceeinheit des „Interdisziplinären Zentrums für klinische Forschung“. Sie ist zurzeit Gruppenleiterin am „Center for Nanotechnology“ (CeNTech) und Koordinatorin des Deutsch-Chinesischen BMBF-Projekts „Biocompatibility of nanoparticles for medical engineering, diagnostics and therapy“.



Thomas Luger ist Professor und Direktor der Universitätsklinik Münster. Er war Gastprofessor an den Universitäten Tohoku, Hiroshima, Teikyo, Sendai, Osaka, Helsinki, Cardiff, Nottingham, Leicester und am St. Thomas Hospital in London. Derzeit ist er Präsident der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, Editor der Zeitschrift *Experimental Dermatology* und im Redaktionsbeirat verschiedener wissenschaftlicher Zeitschriften. Er erhielt zahlreiche internationale Preise und ist Mitglied der Deutschen Akademie der Wissenschaften, Leopoldina.



Harald Fuchs ist Professor für Experimentelle Physik an der Universität Münster und Direktor des CeNTech. Er ist Mitglied der Helmholtz-Gemeinschaft und hat drei Gastprofessuren in China. Er ist Mitgründer zweier Nanotechnologiefirmen und Mitglied verschiedener wissenschaftlicher Institutionen, Gesellschaften und Redaktionsbeiräte. Seit 2008 ist er Sprecher des Chinesisch-Deutschen Sonderforschungsbereichs SFB/TRR61. Er erhielt den Philip-Morris-Forschungspreis „Challenge Future“ und ist Mitglied der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina, und der Deutschen Akademie der Technikwissenschaften, acatech.



Stefan W. Schneider ist Professor für Zelluläre Differenzierung an der Universität Mannheim-Heidelberg und Oberarzt an der Universitätsklinik Mannheim. Er studierte Medizin in Würzburg, Chur und Izmir und promovierte 1994 im Institut von Prof. Dr. H. Oberleithner. Er war von 1994 bis 1997 als DFG-Stipendiat in der Abteilung für Physiologie an der Universitätsklinik in Würzburg und an der Yale Universität in New Haven (CT, USA). 1997–2001 arbeitete er als Postdoc in der Abteilung für Physiologie in Münster und habilitierte auch dort. Anschließend wechselte er an die Universitätsklinik Münster und 2008 an die Universität Mannheim-Heidelberg.

zur molekularen Medizin mit den folgenden Vorteilen: Lokale Prozesse wie Diffusion und Durchmischung laufen extrem schnell ab, und die sensorischen Antwortzeiten sind sehr kurz. Darüber hinaus ermöglicht die Nanotechnologie die direkte Untersuchung von lokalen Eigenschaften. Physikalische und chemische Prozesse können gesteuert und verstärkt werden, die Präzision erhöht und ein direkter Zugang zu Biomarkern erreicht werden. Schließlich können die Ergebnisse in Echtzeit gewonnen werden. Die Kombination dieser Konzepte mit anderen Forschungsgebieten wie Systembiologie und Systemmedizin wird den Weg zu einer individuellen Medizin gestalten.

In welcher Beziehung steht nun die individuelle Medizin zur Nanomedizin? Ähnlich wie in bestehenden medizinischen Diagnose- und Therapieverfahren und diktiert durch ökonomische Rahmenbedingungen müssen Massenanwendungen neuer Screening- und Diagnoseverfahren in der Medizin schnell, einfach und kosteneffizient sein. Daher sind Miniaturisierung, Parallelisierung sowie Integration und Automatisierung zwingend erforderlich. Der Bedarf an großen Mengen von Routinemessungen zur Gewinnung genügender und vergleichbarer Daten erfordert die Entwicklung von „intelligenten“ Funktionseinheiten, wie Biosensoren und dezentralisierten Aktuatoren, sowie von Wirkstoff-Freisetzungskonzepten – Anforderungen, die kosteneffizient nur mithilfe von Nano- und Mikrosystemtechnologie zu erfüllen sind.

Die Nanomedizin schließt die Entwicklung von Nanoteilchen und nanostrukturierten Oberflächen sowie von ent-

sprechenden Techniken zur molekularen Diagnose, Behandlung und Therapiekontrolle ein („Theranostik“). Darüber hinaus zielt sie auf integrierte medizinische Nanosysteme, die zukünftig in der Lage sein könnten, die Überwachung und Wiederherstellung des Körpers auf zellulärer Ebene auszuführen. Die Nanotechnologie betrachtet hierbei Zellen als ein komplexes System wechselwirkender Nanomaschinen. Visionäre Konzepte sehen die Konstruktion und die Kontrolle von künstlichen Zellen vor, die künstliche Nanobaulemente und Nanostrukturen für medizinische Anwendungen nutzbar machen (Abbildung 1).

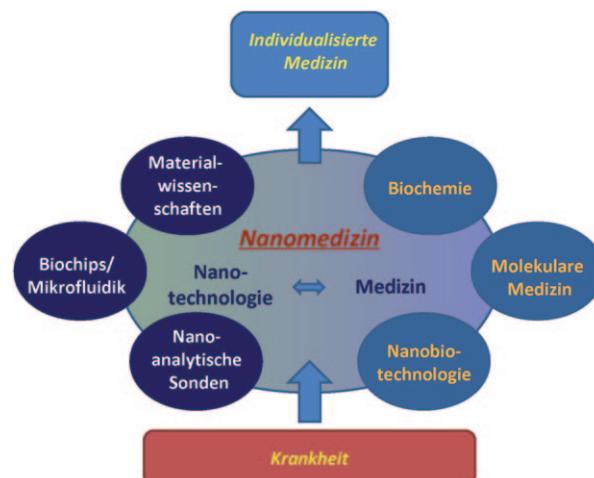


Abbildung 1. Technologien, die in die Nanomedizin einfließen.



Mauro Ferrari ist Professor und Direktor des Zentrums für Nanomedizin in der Abteilung für Biomedizinische Entwicklung am Zentrum für Gesundheitswissenschaften der Universität Texas, Houston, Professor für experimentelle Therapeutika, Universität Texas, M.D., Anderson Cancer Center, Professor für Bioentwicklung der Rice Universität und Präsident der „Alliance for NanoHealth“, Houston. Von 2003 bis 2005 fungierte er als Experte für Nanotechnologie am NCI. Er war bei der Etablierung des NCI „Alliance for Nanotechnology in Cancer“ führend beteiligt.



Biana Godin (Vilenchouk) studierte und promovierte am Institut für Pharmazeutische Wissenschaften an der Hebräischen Universität von Jerusalem (Israel). 2006 spezialisierte sie sich auf die Entwicklung neuer Nanosysteme für eine dermale und transdermale Verabreichung von Therapeutika. Zurzeit ist sie als Postdoktorandin am „Nano-Medicine Research Center“ der Universität Texas, Health Science Center, in Houston tätig. Ihr hauptsächliches Forschungsinteresse sind nanotechnologische Lösungen für die Medikamentenzuführung.

2. Nanotechnologie in der medizinischen Diagnostik

Die Diagnostik spielt als Grundlage erfolgreicher Prävention und effizienter Behandlung von Krankheiten eine Schlüsselrolle in der Medizin. Als Beispiel für eine weit verbreitete Krankheit sei Krebs genannt, der eine Haupttodesursache in Industrienationen darstellt. Eine signifikante Erhöhung der Heilungsrate erscheint unwahrscheinlich, wenn es nicht gelingt, die Pathophysiologie dieser Krankheit weiter aufzuklären und so ein Fundament für die Entwicklung neuer Antikrebsmittel zu schaffen.^[9] Der Vorteil der nanotechnologischen Diagnostik gegenüber klassischen Methoden liegt in ihrer tendenziell höheren Empfindlichkeit und Selektivität.

Ein wichtiges Gebiet der Nanotechnologie ist die Erzeugung von nanoskaligen Materialien. Für Diagnosezwecke werden zumeist Größenquartelungseffekte (quantum confinement) genutzt, die nur auf der Nanometerskala auftreten. Die Nanopartikel sind unter Umständen in anderen kristallinen und amorphen Nanosystemen eingebettet, um ihre Funktion und Bioverfügbarkeit zu verbessern. Auf diesem Gebiet laufen intensive Entwicklungsarbeiten zu metallischen und halbleitenden Quantenpunkten, Nanoclustern sowie Nanopulvern. Einige dieser Teilchen werden als In-vivo-Marker in medizinischen Bildgebungstechniken („molecular imaging“) auf der Grundlage von IR- und NMR-Spektroskopie eingesetzt, um die Auflösung und Empfindlichkeit wesentlich zu erhöhen und damit eine frühere Diagnose von Krankheiten zu ermöglichen. Dadurch werden

auch kostengünstigere therapeutische Maßnahmen realisierbar. Durch Modifizierung von Nanoteilchenoberflächen mit chemischen Erkennungsgruppen gelingt die Identifizierung von komplementären Gruppen auf Zelloberflächen, die beispielsweise auf Tumore oder andere schwerwiegende Erkrankungen hinweisen (Abbildung 2). Das gleiche Konzept der molekularen Erkennung kann dann für eine ortsspezifische Wirkstoff-Freisetzung dienen.^[10–12]

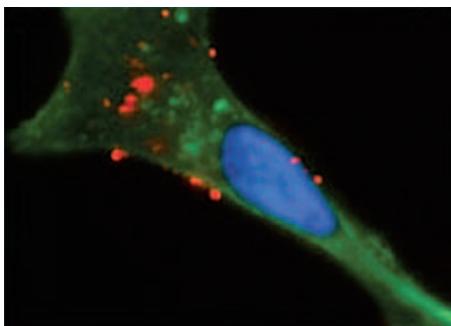


Abbildung 2. Prostatakrebszellen mit inkorporierten fluoreszenzmarkierten Nanoteilchen (rot). Auf den Nanoteilchen wurden RNA-Aptamere angebracht, die an das prostataspezifische Membranantigen PSMA binden. (PSM ist ein Membranprotein, das auf epithelialen Prostatakrebszellen überexprimiert wird.) Zellkern und Zytoskelett sind blau bzw. grün angefärbt. Ähnlich gestaltete Nanoteilchen sind in der Lage, in Krebszellen einzudringen und Chemotherapeutika freizusetzen, die den Tumor zerstören.^[13] Wiedergabe mit Genehmigung der American Association for the Advancement of Science (AAAS).

2.1. In-vitro-Diagnostik

Die Anwendungen der extrakorporalen Diagnostik von Zellen sind vielfältig. In-vitro-Verfahren helfen beispielsweise bei der Überwachung von Bluttransfusionen oder bei der Kontrolle der Plasmakonzentration von Pharmazeutika nach der Verabreichung. Sie liefern also Informationen, die sowohl der Diagnose als auch der Behandlung von Krankheiten dienen. Das Ziel jeglicher Diagnostik ist eine nichtinvasive, frühe und präzise Detektion von biologischen Markern, die für bestimmte Krankheiten charakteristisch sind. Dies sollte möglichst in Routineverfahren erfolgen, um frühzeitig geeignete Behandlungsvarianten mit großen Erfolgsaussichten auswählen zu können. Es werden derzeit unterschiedliche nanotechnologische Ansätze für die gleichzeitige direkte Bestimmung vieler verschiedener Krankheitsmarker durch nichtinvasive Techniken verfolgt. Zwei wichtige mikrotechnische Systeme, die bereits in den 80er Jahren entwickelt wurden, nämlich Chips mit DNA-Mikroarrays und die Mikrofluidiksysteme für die „Lab-on-a-chip“-Diagnose, wurden inzwischen nanotechnologisch optimiert. Die Miniaturisierung wurde in beiden Fällen durch die Weiterentwicklung der Photolithographie ermöglicht. Inzwischen erreicht diese Technik eine laterale Strukturauflösung von 10–100 nm; somit können um drei Größenordnungen kleinere Strukturen erzeugt werden, als zur Zeit der Entwicklung dieser Verfahren zunächst möglich schien. Im Ergebnis kann die Informationsdichte auf einem Biochip damit um einen Faktor von 10^6 – 10^8 erhöht werden, was die Möglichkeiten der Nanoska-

lierung in der Biomedizin eindrucksvoll verdeutlicht. Mithilfe der Photolithographie können photolabile Gruppen selektiv durch Bestrahlung entfernt werden, sodass reaktive molekulare Einheiten freigelegt werden. Die Technik kann für eine sehr präzise Musterbildung aus unterschiedlichen chemischen und biologischen Einheiten oder zur Erzeugung von Texturen auf Substraten genutzt werden, um die Bindung von Biomolekülen an molekulare Segmente zu ermöglichen, z.B. Einzelstrang-DNA für die Hybridisierung oder unterschiedliche Substrate für Proteomanalysen.^[14–20]

Ein weiteres Ziel der medizinischen Diagnostik ist die Einzelzelldiagnostik. Mithilfe nanotechnologischer Verfahren können sogar einzelne Moleküle untersucht werden, und sie eröffnen auch hier neue Analyse- und Detektionsmöglichkeiten. Der Mehrwert dieses Ansatzes wird klar, wenn man Kollektive von Primärzellen betrachtet, die üblicherweise Mischungen entweder von verschiedenen Zellarten oder auch von gesunden Zellen und Tumorzellen darstellen. Eindeutige und statistisch abgesicherte Ergebnisse sind mit solchen Populationen schwer zu erzielen.^[21] Ein weiteres Motiv für die Anwendung der Einzelzellanalyse ist die Verdünnung von Effekten. Im Fall einer Erkrankung bedeutet dies, dass kleine Abweichungen zwischen Zellarten oder schwache Wirkungen von Pharmaka in Mischkulturen möglicherweise nicht nachgewiesen werden können. Konventionelle biochemische Verfahren sind für derartige Untersuchungen zumeist unbrauchbar, weil die große Menge von Zellen, die z.B. für eine Elektrophorese benötigt werden, letztlich zu einer Analyse von Gewebe oder Zellmischungen führt und damit keine Einblick in die definierten Grundstrukturen liefert. Mit der Möglichkeit, eine spezifische Zellart zu beschreiben, können deren Rolle innerhalb des Gewebes und des Organismus definiert und die Bedeutung von Zellwechselwirkungen, Differenzierungseffekte und Erkrankungen charakterisiert werden.^[22]

Zur Isolierung einzelner adhärenter Zellen existieren unterschiedliche Selektionstechniken wie Klonierungsringe, begrenzte Verdünnung, Lasermikrodisektion, Zellkatapulte oder mikrotechnisch hergestellte Träger.^[23–25] Fluoreszenzaktivierte Zellsortierung (FACS), magnetische Sortierung, Säulenchromatographie, „panning“, begrenzte Verdünnung und Mikrofluidikverfahren sind häufig eingesetzte Techniken zur Isolierung von nichtadhärenten Zellen.^[24,25] Derartige Zellen wurden bisher durch klassische biochemische Methoden wie die Polymerasekettenreaktion (PCR) oder Patch-Clamp-Techniken analysiert. Eine nanotechnologische Alternative ist die inzwischen häufig verwendete Biochip-Analyse im Zusammenhang mit photolithographischen Techniken (siehe Abschnitt 2.1.1). Zusammen mit der Entwicklung von „intelligenten“ Oberflächen, Halbleiterfertigungstechniken und kombinatorischer Chemie sowie Bioinformatik wurden erhebliche Fortschritte bei der Expressionsanalyse einzelner Zellen gemacht.^[26–30] Auf der Mehrzellebene ist die Biochip-Analytik inzwischen in verschiedenen Bereichen der klinischen Diagnostik etabliert. Als Beispiel seien Expressionschips für die Verfolgung von bakteriellen Infektionen der Mundhöhle genannt, die inzwischen zur „Point-of-Care“-Diagnose eingesetzt werden können. Die nanotechnologische Modifizierung von Biochipoberflächen führt somit zu immer

kleineren Sonden für die Analyse von RNA, die aus einzelnen Zellen gewonnen wird.

Der Erfolg der Expressionsprofilanalyse ermutigte Proteinforscher, einige dieser Methoden aufzugreifen. Da der Unterschied zwischen der exprimierten Form und der biochemischen Erscheinung von Proteinen (z.B. nach Faltung oder Sekundärmodifizierung) bemerkenswert groß ist, ist die Analyse der Proteine einzelner Zellen von zunehmendem Interesse, da durch sie die biologischen Prozesse in der Zelle besser beschrieben werden als durch das Expressionsprofil. Die ersten Anwendungen von Proteinarrays wurden im Jahr 2002 beschrieben.^[31,32] Heute sind verschiedene Arten solcher proteinbasierter Biochips verfügbar (siehe Abschnitt 2.1.1). Klinische Anwendungen derartiger Proteinchips umfassen den Nachweis von Krankheitsmarkern für die Diagnose, Prognose, das Ansprechverhalten auf Arzneimittel sowie die Verfolgung der Entwicklung einer Krankheit. Antikörperarrays eignen sich auch für Hochdurchsatzverfahren zur funktionellen Charakterisierung von Krankheiten auf molekularer Ebene. Durch Proteinarrays können außerdem Informationen über das Fortschreiten von Krebserkrankungen und über die Tumorunterarten gewonnen werden, die gezielte Eingriffe und eine Therapieoptimierung ermöglichen.^[33–41]

Auch die Rasterkraftmikroskopie (AFM, siehe Abschnitt 2.1.3.1) wird für die Einzelzellanalytik eingesetzt. Sie ermöglicht hochauflösende In-vitro-Untersuchungen von Zelloberflächen und die Analyse physikalischer Eigenschaften wie der Elastizität auf Einzelzelniveau. Die Kraftspektroskopie liefert unmittelbar lokale quantitative Daten über intra- und intermolekulare Kräfte in einzelnen Molekülen.^[42–48] Das Verfahren wurde auch für Manipulationen, z.B. für Mikroschnitte, eingesetzt: Durch die Möglichkeit, Organelle zu isolieren und Chromosomen in präziser Weise zu schneiden, war die Technik zusammen mit nachfolgender PCR-Verstärkung für die Analyse isolierter DNA-Fragmente geeignet. Es war sogar möglich, isolierte Fragmente auf mechanischem Weg wieder in ihre ursprüngliche Position zu implantieren.^[49,50]

2.1.1. Mikrofluidik und Nanoarrays

Eine Mikrofluidikeinheit ist ein Bauelement mit einem oder mehreren Kanälen und einer Gesamtgröße unter 1 mm. In den Kanälen, deren Weite einen Mikrometer unterschreiten kann, lassen sich Fluidvolumina im Nano- und Pikoliterbereich handhaben. Mithilfe dieser Mikrosysteme kann praktisch jeder biologische Assay, der auf molekularem Niveau arbeitet, auf einem Chip integriert werden („Lab-on-a-chip“-Systeme, Abbildung 3). Die Vorgehensweise bietet nicht nur die Möglichkeit, lebende Zellen zu isolieren und zu manipulieren, sondern auch Toxizitätsassays, enzymgekoppelte Immunadsorptionstests (ELISA), PCR-Verstärkung, Blutseparation oder die Genanalyse von Zytokin-Polymorphismen auszuführen.

Der Fluss in Mikrofluidikzellen wird durch die dimensionslose Reynolds-Zahl Re charakterisiert [Gl. (1)]. Die Reynolds-Zahl sollte für laminare Strömungen, die eine Voraussetzung für Molekültransporte durch Mikrokanäle sind, einen Wert unter 100 aufweisen. Mikrofluidikchips

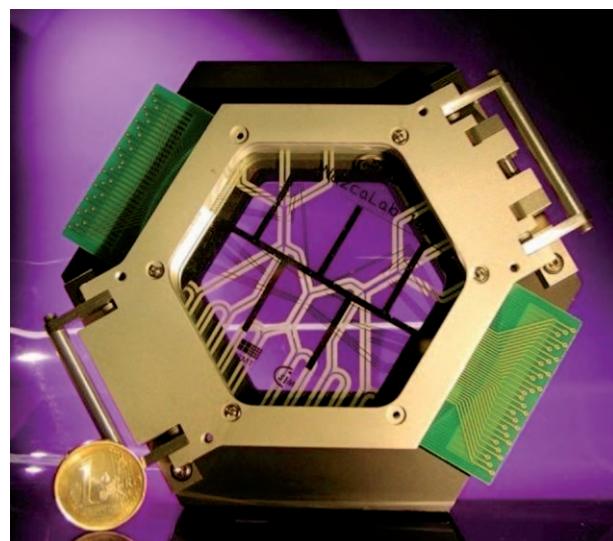


Abbildung 3. Lab-on-a-chip-Technologie für biologische Anwendungen: Ein System aus vielen verzweigten Mikrofluidikanälen (zwischen weißen Doppellinien) mit unterschiedlichen Elektrodenanordnungen (schwarze feine Linien) ermöglicht Anwendungen wie Modifizierung, Fusion und Trennung von Zellen. Die Anschlüsse für Fluidzufluss und -abfluss befinden sich auf der Geräterückseite, die elektronischen Verbindungen werden über 2×30 -polige Anschlüsse (grüne Platinen) hergestellt. Zum Größenvergleich ist eine 1-Euro-Münze gezeigt. Das Bild wurde freundlicherweise durch M. Jäger, Fraunhofer IBMT, Potsdam, zur Verfügung gestellt.

$$\begin{aligned} Re &= (\rho u^2) / (\mu u / L) \\ &= \rho u L / \mu \\ &= u L / \nu \end{aligned} \quad (1)$$

ρ = Dichte, u = Geschwindigkeit, μ = dynamische Viskosität, L = charakteristische Länge, ν = kinematische Viskosität

lassen sich mittlerweile aus Poly(dimethylsiloxan) (PDMS) leicht herstellen. Die zusätzliche Möglichkeit, das Material auf Einzelzelluntersuchungen abzustimmen, gab diesem Gebiet einen starken Auftrieb.^[52–54] Ein weiterer großer Vorteil von PDMS ist die hohe Biokompatibilität durch minimale Endotoxinkontamination, Leukozytenaktivierung und komplementäre Aktivierung, sodass sich das Material zur Herstellung von biomedizinischen Instrumenten eignet.^[55] In einer Anwendung der Biochips zeigten Du et al. 2006, dass aus einer Mischung von menschlichen Drüsenepithelzellen (HGEC), menschlichen Zervikalstromazellen (HCSC) und zervikalen Krebszellen (HCCC), die durch ein mit Antikörpern modifiziertes Mikrofluidiksystem strömten, mehr als 30% der Krebszellen isoliert werden konnten.^[56]

Ein weiterer Ansatz war die Entwicklung eines Mikrofluidik-Zellchips zur Überwachung allergischer Reaktionen. Auf einem PDMS-Chip, der eine Zellkulturmutter und Mikrokanäle enthielt, wurden zunächst basophile Leukämiezelllinien (RBL-2H3) kultiviert. Mit einem Fluoreszenzfarbstoff markierte Moleküle wurden nach allergischer Stimulation ausgeschieden und durch eine Photovervielfacher-Röhre (PMT) erfasst, die auf einem Lichtmikroskop montiert

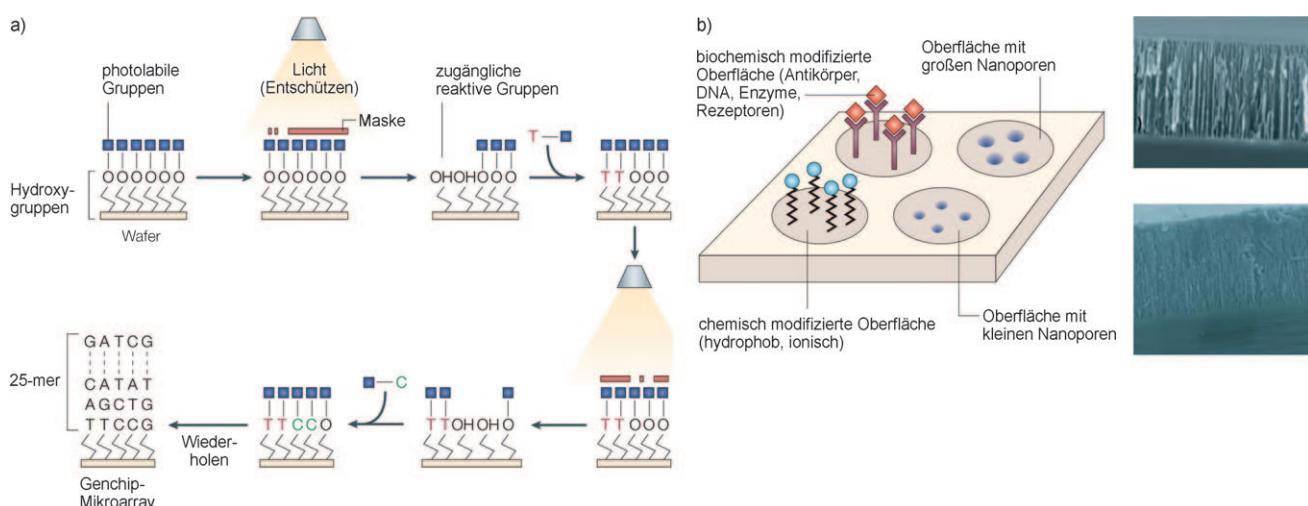


Abbildung 4. Photolithographische Herstellung von Mikro- und Nanoarrays für DNA-Analyse (a) und Proteomik (b). a) Ein Mikroarray mit Mustern aus Biomolekülen auf einer Oberfläche, z.B. zur DNA-Sequenzierung durch Hybridisierung. Blaue Quadrate stellen photolabile Gruppen dar, die durch eine Maske selektiv beleuchtet und aktiviert werden (Photolithographie). Durch mehrfaches Wiederholen dieses Vorgangs entstehen auf dem Mikroarray Einzelstrang-Hybridisierungssonden mit spezifischen Sequenzen. b) Photolithographie kann ebenfalls für chemische Modifizierungen, die Übertragung biologischer Gruppen und das Aufbringen physikalischer Texturen auf die Substrate eingesetzt werden, z.B. für die Vortrennung von Proteingemischen vor einer Untersuchung mit Flugzeit-Massenspektrometrie. Unterschiedliche Proteinmuster werden durch verschiedene Substratbehandlungen erzeugt. Die Bilder zeigen Nanokanaloberflächen, die es ermöglichen, Proteine und Proteolysefragmente selektiv zurückzuhalten. Dies hat den Effekt des „Fokussierens“, da die resultierenden Proteinprofile in unterschiedlichen Molekulargewichtsbereichen zu finden sind. Wiedergabe mit Genehmigung von Macmillan Publishers Ltd.^[58]

war. Die Technik der Photolithographie wurde von der mikroelektronischen Industrie übernommen. Ursprünglich lag die laterale Auflösung in der Größenordnung von 100 µm (oder 100 000 nm). Inzwischen ist die lineare Auflösung der Lithographie um einen Faktor 1000 höher, d.h. auf Nanoarrays kann eine um einen Faktor von 1 000 000 höhere Informationsdichte erreicht werden. Durch Prägetechniken können unterschiedliche Nanokanalstrukturen hergestellt werden, um Proteine aufgrund ihres Molekulargewichts durch selektive Fraktionierung zu trennen. Durch Behandlung des Chips mit verschiedenen biologischen Proben sind so parallel unterschiedliche funktionelle Muster erhältlich (Abbildung 4).^[57]

Spezifische Serummarker für die Früherkennung von Krebs sind noch nicht verfügbar. Die Nanotechnologie würde hier die Möglichkeit bieten, eine breite Vielfalt von molekularen Markern gleichzeitig zu evaluieren. Dabei gewonnene Informationen können sowohl bei der effizienten Diagnose als auch bei der Überwachung und der Auswahl therapeutischer Strategien hilfreich sein. Einzelne Marker, die heute für den frühen Nachweis von Krebs klinisch genutzt werden, z.B. das prostataspezifische Antigen (PSA), können solche Informationen nicht liefern, weil sie individuell unterschiedlich stark exprimiert werden. Daher stellt die Ex-vivo-Diagnose von biologischen Flüssigkeiten wie Serum, Speichel, Urin oder von Gewebeabstrichen eine noch nicht gelöste Aufgabe dar.^[59]

Inzwischen sind auch Fluidiksysteme mit anderen Konzepten kommerziell verfügbar. Beispielsweise lassen sich in einem Bauelement, das dielektrophoretische Feldfähigkeiten nutzt, nichtadhärente Zellen isolieren und manipulieren. Das

Prinzip wurde durch Fiedler et al. im Jahr 1998 eingeführt.^[61] Es wurden bestimmte Elektrodenkonfigurationen entwickelt, die entweder als Trichter oder Separatoren wirken, oder die – als elektrische Oktoden – Zellen für die weitere Manipulation einfangen. Das elektrische Feld führt in den Kulturen zu einer leichten Erwärmung, die jedoch unter geeigneten experimentellen Bedingungen vernachlässigbar ist. Darüber hinaus konnte das Auftreten von Membranpolarisierung und Joulescher Erwärmung ausgeschlossen werden, sodass die Methode für medizinische Anwendungen infrage kommt.^[60–62]

Ein dringender Bedarf besteht bei der Untersuchung auf systemische Entzündungsreaktionen, die nach der Implantation eines kardiopulmonären Bypass (CPB) auftreten können. Meist können Entzündungsreaktionen erst dann klinisch bekämpft werden, wenn Blutuntersuchungen aus medizinischen Laboratorien vorliegen, was aber mehrere Stunden bis hin zu mehreren Tagen dauern kann. Daher besteht die Notwendigkeit, das Plasma vom Gesamtblut zu trennen und die Konzentration von klinisch relevanten Proteinen in Echtzeit zu messen. Ein Mikrofluidikelement zur Verfolgung von Entzündungsmarkern in Echtzeit, dem ein Plasmaanalysesystem nachgeschaltet werden kann, wurde kürzlich entwickelt.^[63] Hier bietet die Mikrofluidik eine Chance, in einem frühen Stadium in einen Entzündungsprozess einzutreten, der ohne Behandlung lebensbedrohlich werden kann. Kürzlich wurde ein neuartiger Mikrochip mit einer anisotropen Nanofluidikstruktur entwickelt, der Biomoleküle wie DNA oder Proteine separieren kann. Mit seiner extrem feinen Siebstruktur kann das System in einem kontinuierlichen Strom von biologischen Flüssigkeiten eingesetzt werden und Proteine nach Größe voneinander trennen.

Durch dieses System lassen sich niedermolekulare Verbindungen in der frühen Diagnose und bei der Überwachung von Therapien identifizieren.^[64]

Ein ebenfalls vielversprechender Ansatz beruht auf der spezifischen Erkennung von biomolekularen Wechselwirkungen mithilfe geeigneter Nanosensoren. Dieses Diagnosekonzept aus der Gruppe von Gimzewsky nutzt die nanoskaligen Kräfte und Deformationen, die infolge einer Ligand-Substrat-Bindung auftreten.^[65] Mikro- und Nanofederarme, deren Prinzip aus der Rasterkraftmikroskopie bekannt ist, werden als Ergebnis der affinen Bindung von Biomarkerproteinen oder von DNA-Hybridisierungseignissen ausgelenkt oder ändern ihre Resonanzfrequenz (Abbildung 5a). Die Auslenkung kann durch Laser oder elektronische Detektoren verfolgt werden, und bei geeigneter Parallelisierung wird die schnelle und gleichzeitige Detektion verschiedener Biomarkern möglich. Mit dieser Technik lassen sich Target-Oligonukleotide ohne radioaktive oder Fluoreszenzmarkierung sowie Serummarker in geringer Konzentrationen nachweisen.^[59,65-67] Weitere Beispiele für Sensortechnologien, die auf Nanofabrikation beruhen, nutzen Nanodrähte und Nanoröhren. Nanodrähte können unterschiedliche Analyte binden oder adsorbieren. Je nach der Ladung der gebundenen Moleküle ergeben sich dabei Veränderungen der elektrischen Leitfähigkeit (Abbildung 5b),^[67-72] die elektronisch detektiert und präzise quantifiziert werden können. Diese Systeme werden noch nicht in der klinischen Praxis eingesetzt, doch sie sind sehr vielversprechend in Hinblick auf Parallelanalysen.

2.1.2. Fluoreszenzmarkierung und -bildung

Fluoreszenzfarbstoffe sind eine wichtige Reagentienklasse für In-vivo-Abbildungsmethoden, die hauptsächlich zur Visualisierung von Zellen und Molekülen eingesetzt werden. Ein großer Nachteil dieser Farbstoffe ist ihre geringe Photostabilität und die folglich rasch abfallende Fluoreszenzintensität. Das Ausbleichen der Farbstoffe beschränkt ihre Anwendung. Anorganische Quantenpunkte haben eine viel

höhere Photostabilität, allerdings sind Selenide und Sulfide, die für diese Zwecke zumeist eingesetzt werden, zytotoxisch und können daher nur für die Diagnose von biologischen Proben außerhalb des menschlichen Körpers eingesetzt werden. Aufgrund ihrer Biokompatibilität, starken Photolumineszenz, hohen Quantenausbeute und Photostabilität sind Siliciumquantenpunkte ideale Kandidaten, um organische Fluoreszenzfarbstoffe in biologischen Assays zu ersetzen. Silicium-Nanokristalle können nasschemisch oder durch Elektronenstrahlolithographie mit nachfolgendem Ionenätzen erzeugt werden, wobei zunächst Siliciumnanosäulen entstehen, die nachfolgend oxidiert werden.^[73] Dabei erhält man lumineszierende Siliciumkerne, die so klein sind, dass schon das Hinzufügen oder Entfernen eines einzigen Atoms ihre optischen Eigenschaften signifikant verändern kann. Weitere einzigartige Eigenschaften von Quantenpunkten sind eine durchstimmbare Emission (durch Änderung der Größe oder der chemischen Zusammensetzung) sowie breite Absorptions- und schmale Emissionsbanden (Abbildung 6).^[74,75]

Durch ihre verbesserte Leuchtkraft und Photostabilität sind Quantenpunkte sehr gut geeignet für die Untersuchung von Zellen oder für den Nachweis von Antigenen in geringer Konzentration.^[76,77] Tests zeigten jedoch, dass es in vivo zur Zersetzung und zum Verlust der Fluoreszenz kam. Gao et al. demonstrierten kürzlich, dass Quantenpunkte durch eine hydrophobe Hülle geschützt werden können und optimierten sie für medizinische Anwendungen. Mit diesen Farbstoffen ließen sich z.B. bei In-vivo-Untersuchungen verschiedene Zellarten in einem Tumor nebeneinander nachweisen.^[78-81]

2.1.3. Lokale Sonden und hochauflösende Abbildung

2.1.3.1. Chemische Sonden

Die Untersuchung der Komponenten von Säugerzellen durch matrixunterstützte Laser-Desorptions/Ionisations-Flugzeit-Massenspektrometrie (MALDI-TOF) ist eine bekannte Methode, Zellen und Gewebe biochemisch zu beschreiben. Nach der Weiterentwicklung dieser Technik ge-

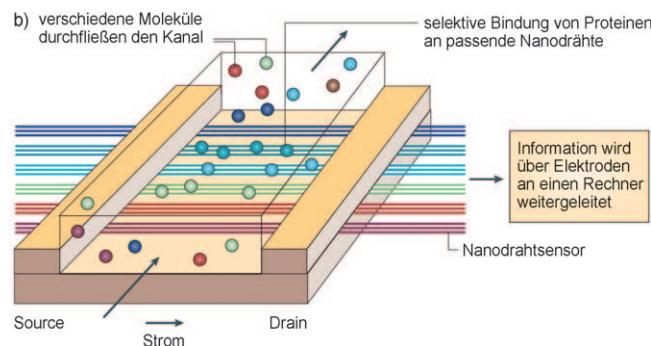
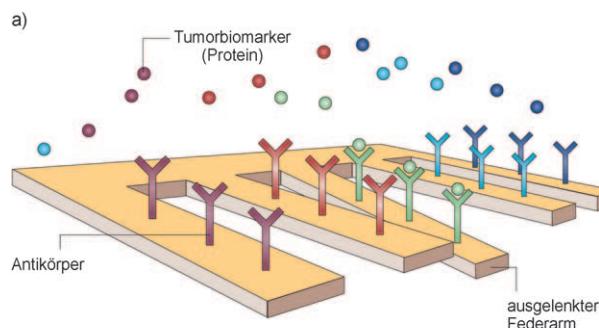


Abbildung 5. a) Array von Nanofederarmen (cantilevers): Biomarker binden affin an die Federarme und verursachen dort eine Auslenkung. Die Verbiegung kann direkt mit Lasern nach dem Lichtzeigerprinzip gemessen werden. Alternativ kann in dynamischen Verfahren die Verschiebung der Resonanzfrequenzen, die durch die Bindung erzeugt wird, elektronisch detektiert werden. Wie mit Nanodrahtsensoren kann auch mit Nanofederarmen eine große Zahl verschiedener Proteine gleichzeitig in Echtzeit erfasst werden. b) Nanodrähte in einem Mikrofluidiksystem. Kreise mit unterschiedlichen Farben stehen für verschiedene molekulare Analyte, die adsorbieren oder affin an jeweils geeignete Nanodrähte binden. Die Bindung verursacht eine Veränderung der elektrischen Leitfähigkeit der Drähte, die qualitativ in Echtzeit bestimmt werden kann. Das Arbeitsprinzip ist das eines biologisch gesteuerten Transistors. Die Ladung des bindenden Proteins unterbricht die elektrische Leitfähigkeit in dem darunter liegenden Nanodraht. Die Verwendung nanoskaliger Drähte ist erforderlich, um ein hohes Signal-Rausch-Verhältnis zu erhalten. Wiedergabe mit Genehmigung von Macmillan Publishers Ltd.^[58]

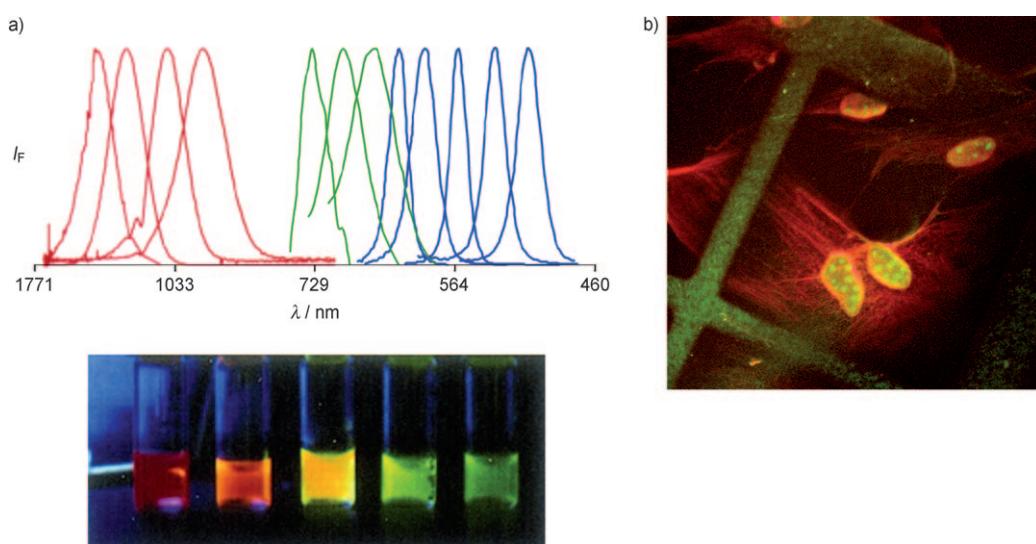


Abbildung 6. a) Größen- und materialabhängige Emissionsspektren tensidbeschichteter Halbleiternanokristalle. Oben: Die blaue Serie stellt CdSe-Nanokristalle mit 2.1, 2.4, 3.1, 3.6 und 4.6 nm Durchmesser dar (von rechts nach links). Die grüne Serie stammt von InP-Nanokristallen mit 3.0, 3.5 und 4.6 nm Durchmesser, die rote Serie von InAs-Nanokristallen mit 2.8, 3.6, 4.6 und 6.0 nm Durchmesser. Unten: Echtfarbenbild von Siliciumoxid-beschichteten Nanokristallen mit einem CdSe-Kern und einer ZnS- oder CdS-Schale in wässrigen Puffern. Die Sonden wurden mit einer Ultraviolettlampe gleichzeitig bestrahlt. b) Dünnschnitt einer doppelt markierten Probe. Wiedergabe mit Genehmigung der American Association for the Advancement of Science (AAAS).^[74]

lingt es inzwischen, immer kleinere Strukturen – etwa die Proteine einzelner Zellen – zu untersuchen.^[82–87] Benninghoven und Mitarbeiter leisteten bahnbrechende Beiträge zur Anwendung der Sekundärionenmassenspektrometrie auf medizinische Fragestellungen.^[88,89] Ein Ansatz zur Charakterisierung isolierter Zellen wurde erstmals durch Colliver et al. im Jahre 1997 vorgestellt. Sie analysierten einzelne Zellen mit Flugzeit-Sekundärionenmassenspektrometrie (TOF-SIMS), um chemische Informationen zu deren Komponenten zu erhalten. Nach der Vorbereitung von *Paramecium-micromicronucleatum*-Zellen mit Gefrierbruchtechniken konnte die Zelloberfläche mithilfe von TOF-SIMS untersucht werden.^[90] Eine Kombination von komplementären Techniken wie optische Mikroskopie (OM), ioneninduzierte Elektronenemission (IIE) und Sekundärneutralteilchen-Massenspektrometrie mit nachfolgender Laserionisation (Laser-SNMS) wurde kürzlich erfolgreich für die Abbildung nativer Biomoleküle in Mausnierenzellen eingesetzt (Abbildung 7).^[91,92]

2.1.3.2. Rastersondenverfahren

Da viele bio- und nanomedizinische Prozesse auf der Molekülebene ablaufen, wird es immer wichtiger, Nanostrukturen an gewählten Positionen abzubilden und lokale spektroskopische Studien auf Molekülebene auszuführen. Die Entwicklung der Rastersondenmikroskopie eröffnete ein völlig neues Feld der Oberflächenabbildungstechniken, die elektronen- und lichtmikroskopische Methoden ergänzen. Zur Untersuchung von Zellen ist insbesondere die dynamische Kraftmikroskopie geeignet. Diese Methode ermöglicht es auch, die Fortbewegung einzelner Proteine zu verfolgen

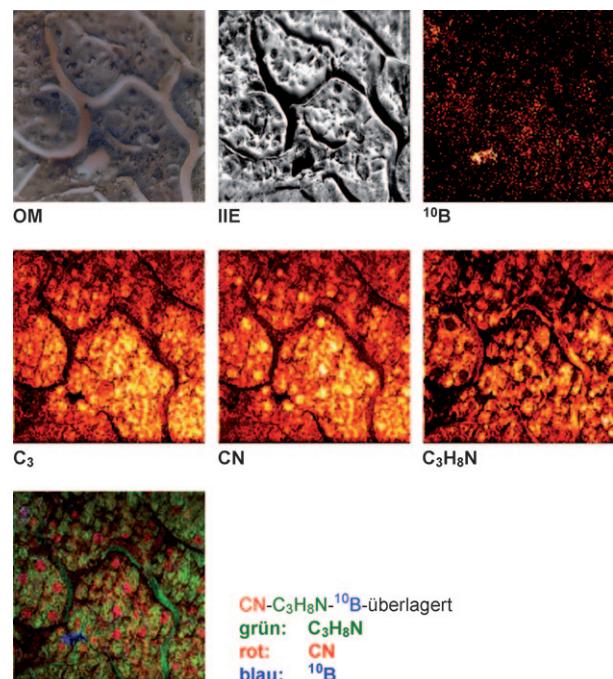


Abbildung 7. Obere Reihe: Optische Mikroskopie (OM), ioneninduzierte Elektronenemission (IIE) und Bor(^{10}B)-Verteilung, nachgewiesen durch Laser-SNMS. Die untere Reihe enthält Verteilungsbilder von molekularen Markern wie den biologischen Fragmenten C_3 , CN und $\text{C}_3\text{H}_8\text{N}$, die für Lipide, Proteine und Nucleinsäuren charakteristisch sind. Die Proben stammen aus den Nieren einer NMRI-Nacktmaus und wurden mit einer Kombination von Natrium-mercaptopoundecahydro-closo-dodecaborat (BSH) und *p*-Boronophenylalanin (BPA) behandelt. Fläche der Probe: $120 \times 120 \mu\text{m}^2$; hellere Farben entsprechen höheren Intensitäten. Wiedergabe mit Genehmigung von Elsevier.^[91]

und Biomakromoleküle im Medium, d.h. in biologisch aktiven Zuständen, abzubilden.^[92–95] Beispielsweise konnten Strukturen des Zytoskeletts wie Stressfasern mit dem Rasterkraftmikroskop (atomic force microscope, AFM) dargestellt werden, und die Dynamik von Kernporen nach Behandlung mit Dexamethason ließ sich mit dieser Technik beobachten.^[96,97] Die Visualisierung von Zellen mit einem AFM ist ohne Beschädigung der Oberflächen möglich, wie am Beispiel von A6-Nierenzellen gezeigt wurde. Ebenso konnten fokale Adhäsionsplaques und Membrantransportphänomene erfolgreich visualisiert werden.^[98–100]

Ein jüngerer experimenteller Ansatz kombinierte AFM mit quantenpunktmarkierten Antikörpern als Oberflächenmarker, um das Protein CFTR nachzuweisen. Dieses Protein ist bei der häufigen Erbkrankheit zystische Fibrose (CF) mutiert oder wird in der Zellmembran nicht exprimiert. Der Vergleich der Erythrozytplasmamembranen von gesunden Spendern und CF-Patienten zeigte, dass Erythrozyten den CFTR-Status des Organismus widerspiegeln und dass die Quantifizierung von CFTR in einer Blutprobe erfolgreich bei der Diagnose von CFTR-verwandten Krankheiten eingesetzt werden kann.^[101] Vielversprechende Entwicklungen der AFM-Technik führten auch zu einer Anwendung in der In-vivo-Mikroskopie. Wie Imer et al. zeigten, kann AFM als minimal invasives Verfahren prinzipiell auch in der klinischen Diagnostik von rheumatoider Arthritis eingesetzt werden.^[102]

Das AFM eignet sich auch, um die Morphologie von Zelloberflächen von intaktem nativen menschlichen Stratum corneum (SC), der Hornschicht der Oberhaut, zu untersuchen. Das SC besteht aus cornifizierten Keratinozyten, die sich im SC anordnen wie Ziegel in einer Wand. Die einzelnen Corneozyten sind durch eine komplexe Matrix aus Lipiden und Proteinen verbunden. Hautkrankheiten oder Alterungsprozesse finden ihren Niederschlag in der Zusammensetzung des SC und in der Morphologie der Corneozyten. Mithilfe von AFM konnten Parameter wie Morphologie, Zellenvolumen und Oberflächenstruktur von nativen SC analysiert werden.^[103] Abbildung 8 zeigt repräsentative Bilder des SC von atrophischer und gesunder Haut.

Die Änderungen in der Zusammensetzung des SC (Kerneozyten und umgebende Matrix) werden anhand der Lücken zwischen den Zellen verdeutlicht. Während in gesunder Haut die Oberfläche des SC durch ein deutliches Faserwerk gekennzeichnet ist, zeigt atrophische Haut gleichmäßig verteilte hügelige Strukturen. Darüber hinaus ist bei einzelnen Corneozyten ein Abflachen im Verlauf von Alterungsprozessen zu beobachten. Dabei nimmt die Zelloberfläche zu und die Zellhöhe ab. Die Anwendung von AFM auf physiologische Fragestellungen wurde kürzlich in einer Sonderausgabe von *Pflugers Archiv (European Journal of Physiology)* zusammengefasst.^[104]

Ein spezielle Form des Verfahrens ist die FIRAT-Analyse (force-sensing integrated readout and active tip).^[105] Es handelt sich dabei um eine sehr viel schnellere und empfindlichere Methode als die übliche AFM, die es darüber hinaus ermöglicht, Filme aufzunehmen sowie physikalische Eigenschaften wie Elastizität, Viskosität und Festigkeit zu bestimmen. Diese Methode könnte zu einer erheblich genaueren Darstellung von Zellmembranen führen.

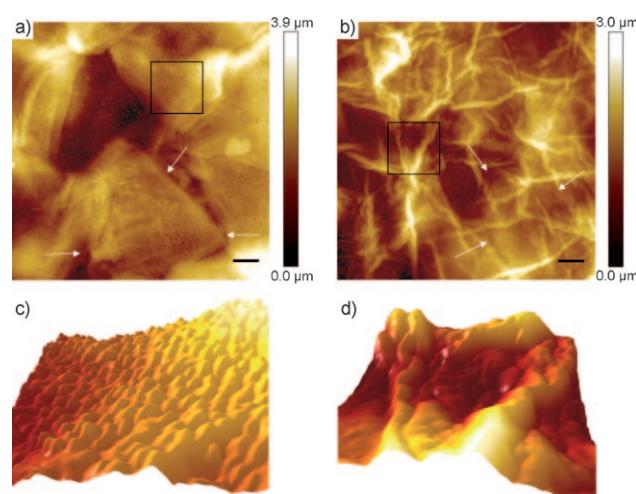


Abbildung 8. AFM-Analyse der Oberfläche des nativen menschlichen Stratum Corneum (SC). Der Vergleich von atrophischer (a und c) mit gesunder Haut (b und d) zeigt einen geringeren Zusammenhalt des SC in atrophischer Haut. Indikatoren sind hier die größeren Abstände zwischen den Corneozyten der atrophischen Haut (weiße Pfeile in a, b). Dagegen zeigt die gesunde Haut eine Faserstruktur, die ein dichtes Netzwerk bildet (b, d). Die Oberfläche der atrophischen Corneozyten ist durch regelmäßige hügelige Strukturen gekennzeichnet (c). Die schwarzen Balken in (a) und (b) entsprechen 5 µm. Die schwarzen Quadrate markieren die Oberflächenbereiche, die in (c) und (d) dreidimensional dargestellt werden.^[105]

2.1.3.3. Plasmonische und optische Techniken

Die Methode der Oberflächenplasmonenresonanz(SPR)-Mikroskopie und -Spektroskopie zur Untersuchung der Wechselwirkung von Biomolekülen ohne zusätzliche Markierung wurde im Jahr 1988 durch Rothenhäusler und Knoll entwickelt.^[106] Die SPR reagiert empfindlich auf Änderungen des Brechungsindex in unmittelbarer Nähe zu Oberflächen. Dieser Effekt tritt auf, wenn Licht in einem bestimmten Winkel auf eine Glas-Metall-Grenzfläche fokussiert wird, um Oberflächenplasmonen – kollektive Schwingungen freier Elektronen in einem dünnen metallischen Film – anzuregen, die sich entlang der Filmoberfläche ausbreiten. Wenn Biomoleküle auf solch einer freien Metallocberfläche immobilisiert und durch entsprechende Liganden gebunden werden, so ändern sich die optischen Bedingungen an der Grenzfläche, die die Ausbreitung der Plasmonen beeinflussen. Die Bindung der Moleküle wird über die damit verbundene Änderung des Brechungsindex gemessen. Die SPR-Mikroskopie ermöglicht es somit, Bindungskräfte von wechselwirkenden Biomolekülen zu messen und Protein-Protein-, Protein-Lipid-, Protein-Nucleinsäure- und Protein-Wirkstoff-Wechselwirkungen kinetisch zu analysieren. Kürzlich wurde die Methode eingesetzt, um die Wirkung des Plasmaaustauschs im Blut nachzuweisen. Dabei wurde eine zeitsparende Bestimmungsmethode für den Anti-A/B-IgG-Titer etabliert. Somit steht eine leicht standardisierbare Technik bereit, die beispielsweise für die Blutanalyse (etwa bei Transplantationen) eingesetzt werden kann. Eine weitere Entwicklung ist die SPR-Mikroskopie; dieses Bildgebungsverfahren ermög-

licht die Hochdurchsatzanalyse von Bindungereignissen.^[107,108]

Die starke Weiterentwicklung von laseroptischen Techniken im Hinblick auf Anwendungen in der Nanomedizin wurde von Peters zusammenfassend dargestellt.^[109] Die Gruppe von Bräuchle stellte eine konfokale laseroptische Methode vor, mit deren Hilfe die Eintrittswege einzelner Viren in lebende Zellen direkt untersucht werden konnten (Abbildung 9). Ihr Analyseverfahren beruhte auf fluoreszenzmarkierten adenoassoziierten Virienteilchen (AAV).^[110,111]

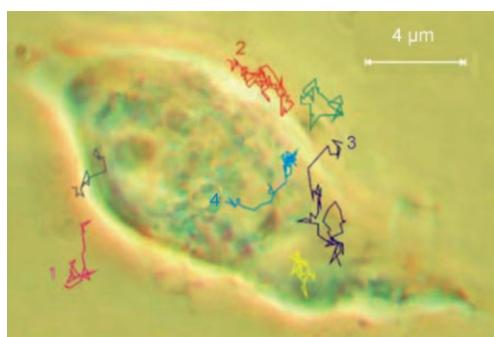


Abbildung 9. Trajektorien von AAV-Cy5-Teilchen beim Eintritt in eine lebende zervikale Krebszelllinie (HeLa). Die Spuren einzelner diffundierender Virusteilchen wurden zu verschiedenen Zeiten aufgenommen. Auf diese Weise werden die verschiedenen Stufen der AAV-Infektion beschrieben, z. B. Diffusion in Lösung (1 und 2), Berührung der Zellmembran (2), Eindringen in die Membran (3), Diffusion im Zytosplasma (3 und 4), Eindringen in die Kernumhüllung (4) und Diffusion ins Kernplasma (4). Wiedergabe mit Genehmigung der AAAS.^[111]

Biomedizinische Informationen können auch über digitale Holographie gewonnen werden, die eine markierungsfreie quantitative Analyse im zellulären und subzellulären Bereich ermöglicht.^[112-114] Die holographische Interferometrie liefert Informationen über Schwankungen in der Dicke/Form (mit einer vertikalen Auflösung unter 8 nm) sowie über Volumenänderungen und Mikrobewegungen zellulärer Proben. Mit dieser Technik konnten Unterschiede in den dynamischen Prozessen von lebenden invasiven und nichtinvasiven Pankreas-tumor-Zelllinien gezeigt werden.^[115-117] Die Charakterisierung der Bewegung von Zellen durch digitale Holographie kann zur Vorhersage der Metastasierung eines Tumors eingesetzt werden.

Hell et al. entwickelten ebenfalls eine wegweisende digitale Abbildungsmethode. Sie nutzten die Fluoreszenzlösung durch stimulierte Emission (stimulated emission depletion, STED), um den effektiven Fokus, aus dem die Information gewonnen wird, gegenüber der optische

Beugungsgrenze um eine Größenordnung zu verringern, sodass beispielsweise einzelne Vesikel in Synapsen dargestellt werden konnten (Abbildung 10). Dies eröffnet neue Perspektiven für die hochauflösende optische (Fernfeld-)Abbildung in der Nanomedizin. Die Technik könnte in Zukunft in klinischen Anwendungen genutzt werden, um nanoskopische optische Informationen in lebenden Zellen unter physiologischen Bedingungen zu gewinnen, die bisher wegen der optischen Beugungsgrenze nur elektronenmikroskopisch zugänglich waren. Mit Elektronenmikroskopie können jedoch keine Zellen unter physiologischen Bedingungen untersucht werden. Kürzlich hat die Gruppe von Hell ein Zweifarben-STED-Verfahren entwickelt, das eine Auflösung von etwa 25–35 nm in zwei Kanälen bietet. Eine nichtlineare iterative (Richardson-Lucy-)Entfaltung führt zu einer weiteren Erhöhung der Auflösung (Abbildung 10). Die Technik wurde eingesetzt, um Nanostrukturen in Zellen darzustellen.^[118-121]

Die Arbeitsgruppe von Hell untersuchte mit dieser Methode aus Neuroblastomzellen isolierte Neurofilamente. Diese Proteine gehören zu den Hauptbestandteilen des axonalen Zytoskeletts und bestehen aus drei Untereinheiten: dem leichten, mittleren und schweren Neurofilament. In einem Zweifarbenexperiment wurde das leichte Neurofilament grün angefärbt, während α -Internexin, ebenfalls eine Komponente des reifen Filaments, rot markiert wurde. Die unterschiedliche Lokalisierung der Proteine ist in Abbildung 10 deutlich zu erkennen.^[121] Mithilfe der STED-Technik gelingen somit auch Untersuchungen an lebenden Zellen.

Juette et al. erhielten mit dem BP-FPLAM-Verfahren (biplane-fluorescence photo activation localization microscopy) kürzlich ebenfalls Bilder von Proben mit einer optischen Auflösung unter 100 nm. Diese Fernfeldtechnik lieferte

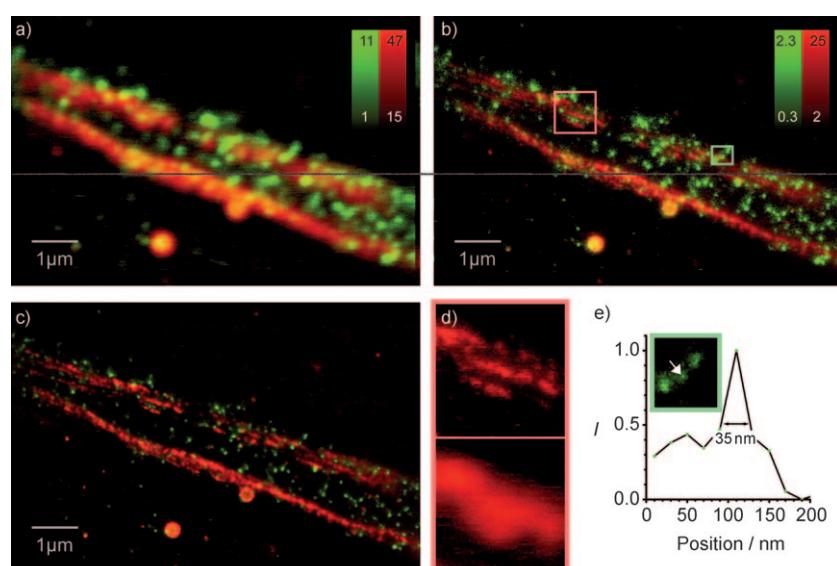


Abbildung 10. Vergleich von Fluoreszenzbildungstechniken: a) konfokal, b) mit STED und c) mit Richardson-Lucy-Entfaltung hergestellte STED-Bilder von Neurofilamenten (grün: leichte Untereinheiten, rot: α -Internexin). d) Im Unterschied zum konfokalen Bild werden durch STED drei deutlich separate α -Internexin-Fäden des Axons dargestellt. e) Strukturen der leichten Untereinheit zeigen eine Halbwertsbreite < 40 nm. Man beachte die unterschiedliche Organisation der leichten Untereinheiten und des α -Internexins. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [121].

Bilder mit einer Auflösung von $30 \times 30 \times 75$ nm über eine Tiefe von mehreren Mikrometern.^[122]

Komplementär zu den in den letzten Jahren entwickelten optischen Verfahren sind die unterschiedlichen Elektronenmikroskopie-Techniken zu sehen, die eine wichtige Rolle bei der Abbildung von biologischen Proben spielen und eine enorme Vielfalt an Informationen liefern. Mithilfe der Kryo-Elektronenmikroskopie (Kryo-EM) wurden beispielsweise in den letzten Jahren zahlreiche faszinierende Strukturen mit hoher Auflösung abgebildet. Die Technik wird derzeit weiterentwickelt, um eine umfassende dreidimensionale Analyse von komplexen Strukturen wie Zellen zu ermöglichen. Zukünftig sollen damit komplett „molekulare Landschaften“ innerhalb ganzer Zellen erfasst werden, um den Weg für eine „visuelle Proteomik“ zu bereiten, die massenspektrometrische Methoden ergänzt und eine quantitative Beschreibung lokaler molekularer Wechselwirkungen liefert.^[123–125]

2.2. In-vivo-Diagnostik

Der Fortschritt der Nanotechnologie und der Bedarf einer individuellen Medizin gaben den Anstoß zur Entwicklung einer empfindlicheren, spezifischeren und zuverlässigeren Diagnostik. Die In-vivo-Diagnostik liefert zeitnah Patientendaten, sodass Krankheiten gemäß dem Konzept der Theranostik („find, fight, and follow“) früh diagnostiziert, therapiert und vom Verlauf her verfolgt werden können. Geeignete Agentien für die Abbildung einzelner Zellen („find“), die Zuführung von Wirkstoffen („fight“) und das Verfolgen der Therapie („follow“) sind Schlüsselthemen für die zukünftige medizinische Versorgung.

Fortschritte auf diesem Gebiet werden auf der Möglichkeit, einzelne Moleküle abzubilden, sowie auf implantierbaren Funktionseinheiten beruhen. Das Ziel der molekularen Bildgebung ist es, Nachweisagentien zu entwickeln und diese auch für Therapien und deren Verfolgung bereitzustellen. Hierbei ist die Behandlung von Krankheiten in einem frühen Stadium von zentralem Interesse. Die Nanotechnologie bietet die Möglichkeit, neuartige Biosensoren und medizinische Bildgebungstechniken mit höherer Empfindlichkeit und Erkennungsgenauigkeit zu entwerfen. Dieses Ziel kann z.B. durch die Entwicklung von spezifischen Nanoteilchen erreicht werden. Zusätzlich bietet die Miniaturisierung von Biosensoren eine Chance für die Implantierung von diagnostischen Funktionseinheiten, die kontinuierlich Informationen an ein Datenerfassungssystem außerhalb des Körpers liefern (z.B. zur Kontrolle des Cholesterinspiegels im Blut). Solche Geräte würden die Lebensbedingungen von Menschen, die eine permanente medizinische Überwachung benötigen, deutlich verbessern.^[126]

2.2.1. Zielgerichtete Abbildung

Optische und elektronische Effekte, die durch die Größe von Nanoteilchen bedingt sind, sind in makroskopischen Proben des gleichen Materials nicht zu beobachten. Entwicklungen in diesem Bereich schließen Quantenpunkte, d.h. Metall- und Halbleiter-Nanocluster, sowie Nanopulver

ein.^[127] Einige dieser Teilchen können im menschlichen Körper als Marker für Bildgebungstechniken (z.B. Kernspintomographie) eingesetzt werden. Hierdurch lassen sich Auflösung und Empfindlichkeit im Vergleich zu herkömmlichen Kontrastmitteln erheblich erhöhen, sodass eine frühe Diagnose von Krankheiten möglich wird.^[75,128] Als Konsequenz lassen sich kostengünstigere klinische Maßnahmen auch in der Therapie einführen. Funktionalisierte Nanoteilchen zeigen Vektorcharakter (siehe Abschnitt 3). Sie können spezifisch komplementäre Gruppen auf Zellen erkennen, die charakteristisch für Krankheiten sind. Beispielsweise können superparamagnetische Eisenoxidnanoteilchen (SPION) mit angebundenen Phosphorothioat-modifizierten Oligodeoxynucleotiden (sODN), die komplementär zu c-fos-mRNA sind (SPION-cfos), neurodegenerative Krankheiten über Magnetresonanztechniken (MR) aufspüren.^[12]

Eine etablierte Anwendung mit superparamagnetischen Eisenoxidteilchen (SPIO) oder ultrakleinen superparamagnetischen Eisenoxidteilchen (USPIO) markierter Zellen in der Kernspintomographie (MRI) ist die Verfolgung von Immunzellen (Monozyten/Makrophagen) während der Entwicklung einer Entzündung. Dieses Verfahren wird z.B. für die Diagnose von kardiovaskulären Erkrankungen oder Multipler Sklerose eingesetzt. Zusätzlich kann die Blut-Hirn-Schranke von diesen Eisenteilchen mithilfe von Makrophagen als Träger überwunden werden, was weitere Möglichkeiten zur Untersuchung von neurodegenerativen Erkrankungen des Gehirns eröffnet.^[129–133] MRI mit Nanopartikel-tracern kann auch für die Detektion von Apoptose, Angiogenese und Gewebeinfiltration während der Krebsentwicklung eingesetzt werden. Andere zielgerichtete Abbildungsverfahren nutzen SPIO-Teilchen für die Verfolgung von Stammzellen, multimodale Perfluorkohlenstoff-nanoteilchen für die Visualisierung der Angiogenese, Liposomen für die Adressierung von Atheromkomponenten und Mikrobläschen für die Bildgebung bei Transplantatabstoßungsreaktionen.^[134–138]

In ausgeklügelten Diagnosesystemen müssen die Teilchen über unterschiedliche spezifische Merkmale und Funktionen wie magnetische Eigenschaften, stimuliert optische Emission und zielgerichtete Bindung verfügen (siehe Abschnitt 3). Allerdings können sich mehrere Funktionen unter Umständen gegenseitig ausschließen, wenn sie in einem einzelnen System zusammengefasst sind. Beispielsweise können Nanoelemente, die der zielgerichteten Adressierung dienen, das Anhaften von Farbstoffen behindern. Dafür bieten Nanoteilchen ein höheres Oberfläche-Volumen-Verhältnis, und kleinere Nanoteilchen zeigen bezogen auf die Gesamtmasse eine höhere spezifische Zahl reaktiver Stellen auf ihrer Oberfläche als größere Teilchen. Quantenpunkte gehören zu dieser Klasse von Systemen.^[139]

Zielgerichtete Abbildungstechniken werden derzeit von Physikern, Medizinern, Biochemikern und Chemikern sowie Ingenieuren intensiv erforscht. Davon profitiert auch die Entwicklung von Positronenemissionstomographie (PET) und Kernspinresonanztomographie (MRI).^[140,141] Zusammen mit Computertomographie (CT) und Einzelphotonenemission-CT (SPECT) gehören diese klinischen Abbildungstechniken zu einem sich schnell entwickelnden Feld der moleku-

laren Bildgebung, die immer detailliertere Bildern von Gewebe in vivo liefert. Um beispielsweise Organe durch PET zu untersuchen, werden bioaktive Radiotracermoleküle benötigt. Die Anbindung von $[^{18}\text{F}]$ Fluorodesoxyglucose (18F-FDG) für den Nachweis von verschiedenen Krebsarten ist in diesem Bereich gut etabliert.^[142–145] Die Tracer müssen für die bestimmten Anwendungen, z. B. zum Nachweis einer Infektion oder einer spezifischen Krebsart, individuell ausgewählt werden. Entsprechend liegt die eigentliche Stärke der funktionellen Bildgebung in der Verfügbarkeit spezifischer Tracer für die jeweilige biologische Fragestellung.^[146] Die Aufgabe der Nanotechnologie ist es dabei, Tracer für neue medizinische Anwendungen zu entwickeln, z. B. für die In-vivo-Detektion von Genexpressionen.

Obwohl es sich bei den meisten in MRI-Anwendungen eingesetzten Materialien nicht um Nanomaterialien handelt, hängt diese Methode wesentlich von der Entwicklung neuer Nanokontrastmittel ab, um die Auflösung zu verbessern und neue Anwendungsfelder zu erschließen. Zum Beispiel sind Au_3Cu_1 -Nanoschalen mit einem mittleren Durchmesser von (48.9 ± 19.1) nm und einer Schalendicke von (5.9 ± 1.8) nm entwickelt worden.^[147] Diese Dimetallteilchen erhöhen den Kontrast von Blutgefäßen und sind ein vielversprechendes intravaskuläres Kontrastmittel für die MR-Angiographie. Kolloidale magnetische Nanoteilchen stellen eine weitere Gruppe von Agentien für die Kernspintomographie von Organen dar. Sie vereinen eine geringe Größe mit einem starken Magnetismus, sind hoch biokompatibel und können über eine aktive Funktionalität an gewünschte Rezeptoren binden. Konjugate aus Nanokristallen und Krebszellen erkennenden Antikörpern zeigten große Vorteile bei der Überwachung des In-vivo-Targetings von menschlichen Krebszellen, die in lebende Mäuse implantiert worden waren. Andere MRI-Kontrastmittel sind gadoliniumhaltige Dendrimere, die schon in sehr niedrigen Konzentrationen effektiv sind. Zahlreiche Dendrimere unterschiedlicher Größe stehen zur Verfügung, um unterschiedliche Organe zu adressieren.^[148,149] Winter et al. charakterisierten ein iodiertes Ölnanoteilchen für die Abbildung von atherosklerotischen Plaques mithilfe von CT.^[150] Mit einer Größe über 160 nm liegen die in den Experimenten eingesetzten Nanoteilchen zwar etwas oberhalb der Definitionsgrenze für „Nano“ (bis 100 nm), doch es waren die ersten spezifischen zielführenden nanoskaligen Agentien für die CT.

3. Nanotechnologie in der Therapie – Forschung und Entwicklung

Ein Vorteil von Nanovektoren – Nanoteilchen, die in der Lage sind, bioaktive Moleküle, einschließlich therapeutischer Wirkstoffe und Bildkontrastverstärker, zu transportieren und abzugeben – für biomedizinische Anwendungen sollte ihre Fähigkeit sein, verschiedene biologische Barrieren zu überwinden und sich im Zielgewebe anzureichern. Derzeit eingesetzte und untersuchte Nanovektoren können in drei Hauptgruppen oder „Generationen“ eingeteilt werden (Abbildung 11).^[151]

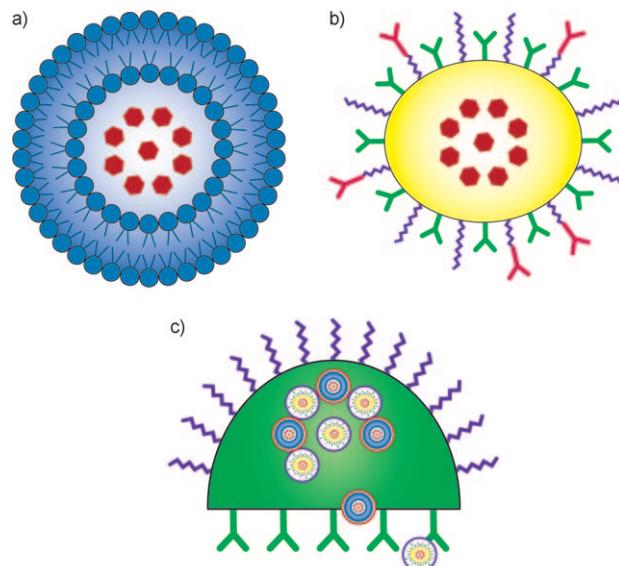


Abbildung 11. a) Nanovektoren der ersten Generation (z. B. derzeit klinisch eingesetzte Liposomen) transportieren eine aktive Komponente in einem Hohlraum. Sie gelangen durch verstärkte Permeation und Aufstau (EPR) oder wegen der besseren Permeabilität der tumorösen Neovaskulatur in einen Tumor. b) Nanovektoren der zweiten Generation tragen Antikörper oder andere Biomoleküle zur Adressierung und können von außen gezielt aktiviert werden oder auf eine Veränderung der Umgebung reagieren; c) Nanovektoren der dritten Generation (wie Mehrstufigensysteme) sind zu komplexeren Funktionen in der Lage, etwa zur zeitlich gesteuerten Freisetzung mehrerer Wellen von aktiven Nanoteilchen, wobei verschiedene biologische Barrieren überwunden und unterschiedliche subzelluläre Targets angesteuert werden können. Wiedergabe mit Genehmigung von Macmillan Publishers Ltd.^[58]

Die erste Generation von Nanovektoren (Abbildung 11 a) hat ein passives Zuführungssystem, das auf das Zielgebiet optimiert ist. Im Fall eines Tumors als Zielgewebe und von Liposomen als Nanovektoren liegt der Wirkungsmechanismus im „EPR-Effekt“ (enhanced permeation and retention), wobei der Träger durch Fenestration in die benachbarte Neovaskulatur eindringt.^[152] Die Oberflächen dieser Systeme sind im allgemeinen mit „Tarnschichten“ versehen (z. B. aus Polyethylenglycol, PEG), die ihre Aufnahme durch phagozytierende Blutzellen verhindert und so ihre Zirkulationsdauer deutlich verlängert.^[153–155] Die bekanntesten Vertreter dieser Generation im klinischen Gebrauch sind Liposomen. Andere Systeme dieser Kategorie sind Metallnanoteilchen, die auch in der Diagnostik verwendet werden, und Albumin-Paclitaxel-Nanoteilchen, die im Jahr 2005 für die Therapie bei metastasierendem Brustkrebs zugelassen wurden.^[156] Die Lokalisierung ist in diesem Fall nur durch die Größe der Nanoteilchen bedingt und nicht verknüpft mit spezifischen Erkennungsreaktionen des Tumors oder von neovaskulären Targets.

Die zweite Generation von Nanovektoren (Abbildung 11 b) weist zusätzlich spezifische Funktionalitäten auf. Durch diese molekularen Strukturen wird das Zielgewebe erkannt, und eine aktive oder passive Wirkstoff-Freisetzung wird möglich. Die besten Beispiele für die erste Unterklasse dieser Nanovektoren sind mit Antikörpern funktionalisierte

Liposome und Nanoteilchen.^[157–159] Neben den Antikörpern werden verschiedene weitere zielführende Gruppen untersucht: Liganden, Aptamere und kleine Peptide, die spezifisch an Zelloberflächenmarker binden, oder an Oberflächenmarker, die in der Umgebung eines Krankheitsherds exprimiert werden.^[160–162] Die zweite Unterklasse dieser Nanovektoren umfasst responsive Systeme, z.B. pH-empfindliche Polymere oder Systeme, die durch ortsspezifische Enzyme des Krankheitsherds aktiviert werden, ebenso wie verschiedene extern aktivierbare Vektoren. Interessante Beispiele hierfür sind Kern-Schale-Systeme aus Gold, die durch Bestrahlung mit Nahinfrarotlicht (NIR) aktiviert werden, oder Eisenoxidnanoteilchen, die unter Einwirkung von magnetischen Wechselfeldern ihre Wirkung entfalten.^[163,164] Andere Techniken zur externen Aktivierung von Vektoren der zweiten Generation sind Ultraschall- und Radiofrequenzanregung.^[58,165–167] Bei Anbindung von Antikörpern, die Krebszellen erkennen, an Nanoschalen können die Targets vor der Anwendung von Infrarotlicht oder dem Erhitzen gezielt angesteuert werden. In einem Prostatakrebs-Mausmodell konnten Nanoteilchen, die mit dem Zytostatikum Docetaxel beladen und mit 2'-Fluorpyrimidin-RNA-Aptameren gekuppelt waren, die extrazelluläre Domäne des prostataspezifischen Membranantigens (PSMA) erkennen und die Krebszellen durch Freisetzung des eingeschlossenen Wirkstoffs abtöten.^[168–169] Ein weiterer neuer Ansatz beruht auf der Kupplung von Nanoteilchen an kleine Interferenz-RNA (small interfering RNA, siRNA), die tumorrelevante Gene ausschalten kann. Durch den Einsatz gerichteter Nanoteilchen konnte gezeigt werden, dass die angekoppelte siRNA das Tumorgewachstum in Mäusen verlangsamt, ohne Nebenwirkungen auszulösen, die oft mit Krebstherapien verknüpft sind.

Die Vertreter der zweiten Generation sind noch nicht durch die amerikanische Food and Drug Administration anerkannt, doch es laufen zahlreiche klinische Untersuchungen, die gerichtete Nanovektoren speziell in der Krebstherapie zum Gegenstand haben.

Ein Vorteil von mit Wirkstoffen beladenen Nanovektoren ist deren erleichtertes Eindringen in Zellen und Gewebe.^[58,151] Nach der kurzen Einführung in die Vielfalt der Nanovektoren der ersten Generationen konzentrieren wir uns nun auf die Barrieren, auf die ein Wirkstoff oder ein Vektor nach dem Einbringen in den Körper stößt. Solche Barrieren senken die Wahrscheinlichkeit, dass das Zielgewebe mit einer ausreichender Wirkstoffkonzentration versorgt wird. Die Konstruktion von Teilchen der dritten Generation zielt nun darauf, diese Barrieren erfolgreich zu überwinden (Abbildung 11c). Betrachtet man das Gesamtbild, so wird klar, dass die molekulare Erkennung zwischen dem Vektor und dem betroffenen Zielgewebe nur einen Aspekt der biologischen Barrieren darstellt. Diese Erkenntnis wird durch zahlreiche Berichte gestützt, die belegen, dass auch bei einer hohen In-vitro-Spezifität in der Regel nur ein kleiner Teil eines Wirkstoffs (z.B. ein Antikörper) das Zielgewebe erreicht.^[170] Die Fülle von Faktoren, die die Wirksamkeit eines Medikaments auf seinem Weg zum Zielgewebe senken, schließt metabolische Clearance und chemische Instabilität des Wirkstoffs, endoepitheliale Barrieren, osmotische Druckgradienten im befallenen Gewebe und hämody-

namische Aspekte der Teilchenmargination ein.^[151,171] Kürzlich zeigte eine Modellrechnung für Nanopartikel im Blutstrom, dass sphärische Teilchen mit ungefähr 50–100 nm Durchmesser eine schlechtere Margination aufweisen als Teilchen mit anderen Größen und Formen.^[171–174] Der Begriff Marginationsdynamik wird in diesem Kontext gebraucht, um die laterale Bewegung der Vektoren zur Gefäßwand zu beschreiben. Dieses Charakteristikum ist wichtig, damit der Vektor in die unmittelbare Nachbarschaft der Blutgefäßwände gelangen kann – möglicherweise in die zellfreie Schicht –, um dann fester an die vaskuläre Struktur zu binden. Aufgrund von hämodynamischen Kräften neigen kugelförmige Partikel mit 50–100 nm Durchmesser dazu, im Zentrum der Blutgefäße zu verbleiben, ohne ausreichende Margination in Richtung der Gefäßwand zu zeigen, wo sie molekulare Targets erkennen könnten. Es sei hier erwähnt, dass die meisten Nanovektoren, die zurzeit im klinischen Bereich und in der biomedizinischen Forschung genutzt werden, die ungünstigste geometrische Form aufweisen. Daher könnten Vektoren mit mehreren Funktionalitäten zur Überwindung unterschiedlicher biologischer Barrieren die therapeutische Wirksamkeit von Medikamenten stark verbessern.

Wie bereits diskutiert, verhindern mehrere sequenzielle Mechanismen, dass diagnostische Agentien oder therapeutische Wirkstoffe ihr Zielgebiet erreichen. Der Einfluss der Teilchenform wurde in diesem Zusammenhang bisher kaum betrachtet, hauptsächlich deshalb, weil er durch die Möglichkeiten bei der Synthese und durch die Art der Anwendung bestimmt war. Jüngste Fortschritte der Nanofabrikationstechnik öffnen neue Wege für die Entwicklung von injizierbaren Vektoren mit alternativen Formen.^[175] Um hinreichend große Mengen von verschiedenen Agentien für Therapie, Bildgebung, thermische Ablation und andere Funktionen transportieren und freisetzen zu können, müssen die Teilchen über eine entsprechende Größe verfügen. Der ideale Nanovektor wäre in der Lage, nach der intravenösen Injektion im Gefäßsystem zu zirkulieren, das Zielgewebe in hoher Konzentration zu erreichen und den Krankheitsherd zu behandeln, ohne dabei Nebenwirkungen auszulösen. Dieses Ziel ist wohl nur mit einem „Mehrstufigensystem“ zu erreichen. Über einen derartigen Nanovektor wurde kürzlich berichtet:^[176,177] Das System beruht auf biokompatiblen und bioabbaubaren Siliciummikroteilchen mit Porendurchmessern bis 50 nm. Diese Träger der ersten Stufe können mit Nanoträgern der zweiten Stufe beladen werden (z.B. Quantenpunkten, Kohlenstoffnanoröhren, Eisenoxidteilchen, Liposomen). Darüber hinaus orientierten sich die Größe und die Halbkugelform an den Ergebnissen von Modellrechnungen zur Teilchenmargination im Blut.^[171,178,179] Das grundlegende Prinzip des Systems sieht zunächst die Zielführung des Mikroteilchens der ersten Stufe an die molekularen Krankheitsmarker an den Gefäßwänden vor. Wenn diese Träger fest an der Gefäßwand (Target ist das Endothel) binden, werden die Nanoteilchen der zweiten Stufe freigesetzt, die therapeutischen Wirkstoffe oder diagnostische Agentien in die betroffenen Zellen transportieren. Auf diese Weise wird die therapeutische Wirkung verstärkt (Abbildung 12).

Spannende Anwendungen der Nanotechnologie sind auch in der regenerativen Medizin zu beobachten. In der klinischen

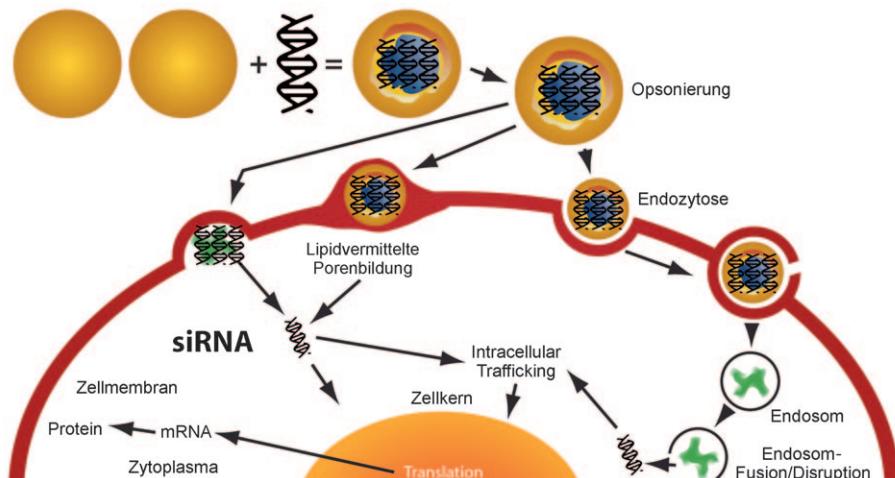
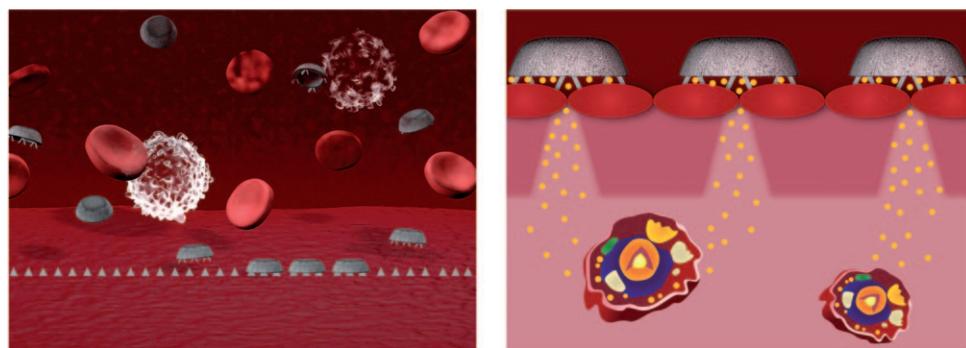


Abbildung 12. Wirkungsmechanismus von mehrstufigen Nanovektoren der dritten Generation. Oben links: Speziell entwickelte Nanoteilchen der Stufe 1 marginieren an die Gefäßwand und binden am Endothel. Oben rechts: Nanoteilchen der Stufe 1 setzen ein Reagens frei, das die Zellkontakte („tight junctions“) und die Basalmembran öffnet. Anschließend werden Teilchen der Stufe 2 – in diesem Fall Liposomen – abgegeben. Unten: Diese Liposomen wechselwirken mit der Membran der Zielzelle und geben den enthaltenen Wirkstoff – in diesem Fall siRNA – in die Zelle ab. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [151].

Forschung umfasst dieses Gebiet z.B. die Manipulation von Stammzellen durch Nanoteilchen und nanostrukturierte Oberflächen sowie das „Tissue-Engineering“, das dazu dient, durch Krankheiten verlorenes Gewebe zu rekonstruieren. Hierzu gehören z.B. der Hautersatz nach Verbrennungen, die Therapie von Lähmungen und Blindheit durch Rückenmarks- bzw. Retinaregeneration, Herzgeweberegeneration nach Infarkten oder die Minimierung von zerebralen Dysfunktionen nach Schlaganfällen durch Reparatur von Neuronen. Die Nanoteilchen unterstützen dabei die Rekonstitution von gesundem Gewebe. Ergebnisse von Stupp et al. deuten darauf hin, dass Regenerationsprozesse im zentralen Nervensystem durch die Anwendung von selbstorganisierenden Nanofasern ausgelöst werden können. Zu diesem Zweck wurde ein amphiphiles Peptid (IKVAV) eingesetzt, das sich selbstständig zu einem Nanonetzwerk zusammenfügt und $\alpha_3\beta_1$ -Integrin erkennen kann (Abbildung 13). Die induzierte Signalgebung scheint Axone zu weiterem Wachstum zu stimulieren und somit die Entwicklung von Neuronen zu fördern. Parallel dazu wurde die Narbenbildung von Astrozyten blockiert, die eine Axonregeneration verhindert. In einem ähnlichen Ansatz scheinen mit Heparin beschichtete Nanoteilchen die Gefäßbildung zu fördern.^[180–182]

Wie in Abschnitt 3 beschrieben wurde, hat sich die Nanomedizin in Gebieten wie dem „Tissue-Engineering“ und der gezielten Wirkstoff-Freisetzung bereits etabliert. Die klinischen Anwendungsmöglichkeiten sind hier recht breit gefasst, fokussieren sich derzeit jedoch hauptsächlich auf Krebskrankungen. Als nachweisliche Ursache für die Entwicklung von Krebs und Atherosklerose oder altersbedingten Krankheiten nehmen inzwischen jedoch die chronische Entzündungen eine zentrale Stellung in klinischen Untersuchungen ein. Diese Zusammenhänge wurden von mehreren Autoren erörtert. Es wurde diskutiert, wie der entzündungsabhängige Immunstatus des Menschen das Risiko z.B. der Krebsentwicklung beeinflusst. Die komplexe molekulare Maschinerie, die der Entwicklung von chronischen Entzündungen zugrundeliegt, macht dieses Gebiet zu einer weiteren Herausforderung für die Nanomedizin.^[183–187]

Therapien für chronische Entzündungen betreffen die zellvermittelte oder humorale Immunität, indem sie Mediatoren wie Interleukine (IL) oder Zielrezeptoren blockieren. (Für einen Überblick zu immunologischen Mechanismen sei auf Lit. ^[188–197] verwiesen.) Die klassische Behandlung von chronischen Entzündungen beruht auf der Gabe von Glucocorticoiden, Cyclosporin A, Sulfasalazin/5-Aminosalicylsäure (5-AZA) oder Calcineurin-Inhibitoren. Immuntherapien mit spezifischen Antikörpern wie Anti-CD20 oder Anti-CTLA4, die gegen bestimmte Zellarten gerichtet sind, werden ebenso eingesetzt. Diese Therapieansätze unterdrücken spezifisch oder unspezifisch die zelluläre oder humorale Immunantwort, was jedoch – mitunter lebensbedrohliche – Nebenwirkungen wie Hyperglykämie (Steroid-Diabetes), Osteoporose, Lymphopenie, Sepsis, Hautatrophie oder Niereninsuffizienz hervorruft. Calcineurin-Inhibitoren blockieren die Synthese von IL2 und damit die Aktivierung von T-Helferzellen und stellen eine Alternative zu unspezifischen Immunsuppressiva dar. Allerdings wurden infolge der systemischen Anwendung auch hier ernstzunehmende Nebeneffekte wie Infektionen und Sepsis beobachtet. Zusätzlich ist die Verabreichung der Medikamente oft problematisch (z.B. Zerfall bei oraler Anwendung). Ähnliche Probleme wie niedrige Effizienz, schwere Nebenwirkungen und unbefriedigende Darreichungsformen waren auch bei klassischen Krebsbehandlungen identifiziert worden, sie konnten aber durch die Entwicklung und klinische Anwendung von Systemen zum zielgerichteten Wirkstofftransport und von neuen

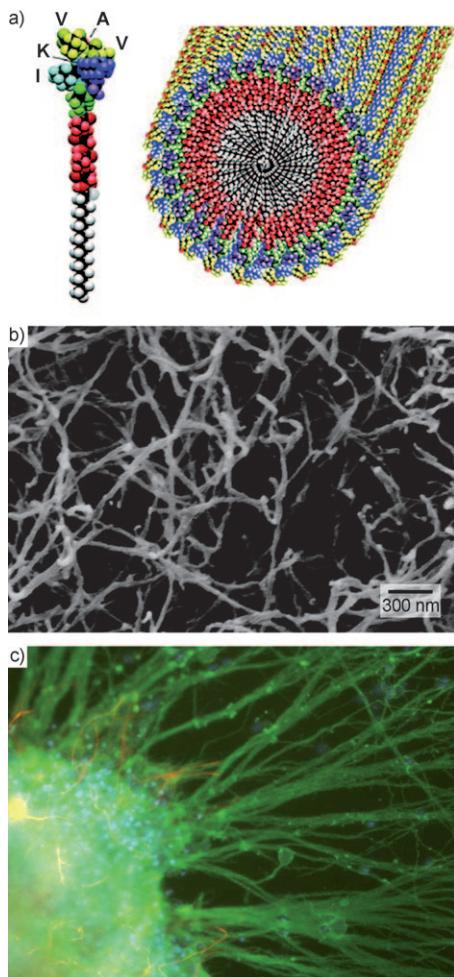


Abbildung 13. Funktionalisierte Nanoteilchen für die Nervenregeneration: a) schematische Darstellung eines IKVAV-enthaltenden amphiphilen Peptids; b) selbstorganisiertes Netzwerk von IKVAV-Amphiphilen (SEM-Bild); c) unterstützt durch ein Nanofasernetzwerk differenzieren Progenitorzellen zu funktionsfähigen Neuronen anstatt narbenbildende Astrozyten zu bilden (Immunfluoreszenzbild). Wiedergabe mit Genehmigung der AAAS.^[182]

Diagnoseansätzen überwunden werden. Nanoskalige Wirkstofftransportsysteme für die Anwendung bei chronischen Entzündungen haben gegenüber bekannten Medikationsformen die Vorteile geringerer Nebenwirkungen, verstärkter Wirksamkeit, besserer Bioverfügbarkeit und reduzierter Gesundheitskosten. Weiterhin besteht die Möglichkeit, in den Nanoträgern hoch toxische, schwer lösliche und instabile Verbindungen zu verkapseln und diese so für die medizinische Anwendung nutzbar zu machen.^[198, 199]

Nanoskalige Transportsysteme für Wirkstoffe oder Gene sind supramolekulare Aggregate aus einzelnen Komponenten mit unterschiedlicher Größe, Form und Zusammensetzung. Dieses Merkmal ist den meisten Nanoteilchen gemeinsam, die in der Nanomedizin eingesetzt werden. Im Allgemeinen sind die Träger durch eine hohe Beladungskapazität für Wirkstoffe oder Gene gekennzeichnet, oder sie sind superparamagnetisch, wie im Fall von Eisenoxidteilchen. Unabhängig von der Zusammensetzung werden Nanovektoren, je nach der gewünschten Anwendung, zusätzlich chemisch mo-

difiziert, z.B. bei intravenöser Injektion durch Oberflächenbeschichtung mit Polyethylenglycol (PEG), um eine frühe Clearance zu verhindern und die Zirkulationsdauer im Blut zu erhöhen.^[58, 200]

4.1. Lipidvehikel

Liposomen sind die am besten klinisch etablierten Nanosysteme für den Wirkstofftransport. Sie zeichnen sich vor anderen Nanopartikelsystemen durch ihre Biokompatibilität, biologische Abbaubarkeit sowie einstellbare Größe und Oberflächeneigenschaften aus. Krebstherapien mit Liposomen sind inzwischen seit über zehn Jahren zugelassen, andere liposomale Arzneimittel stehen in verschiedenen Stadien der klinischen Entwicklung. Liposome wurden zunächst eingeführt, um die Löslichkeit von hydrophoben Chemotherapeutika zu erhöhen und Wirkstoffmoleküle zuverlässig einzuschließen, doch es zeigte sich, dass sie auch Nebenwirkungen reduzieren und die Wirkstoffclearance vermindern können.^[201, 202] Einige Beispiele für solche Medikamente, die wirksamer und weniger toxisch sind als nichtliposomale Präparationen – liposomales Amphotericin B (Handelsnamen: AmBisome, Amphotec, Abelcet), liposomales Doxorubicin (Handelsnamen: Doxo/Caelyx), liposomales Daunorubicin (Handelsname: DaunoXomo) und liposomales Cytosin-β-Arabinosid (Handelsname: DepoCyt) – zeigen schon den großen Einfluss der Nanomedizin auf aktuelle Therapien.^[203] Inzwischen sind viele synthetische, halbsynthetische und natürliche Polymere verfügbar, und insbesondere bioabbaubare Polymere wie Polymilchsäure (PLA), Poly(D,L-lactid-co-glycolid) (PLGA), Poly(ε-caprolacton), Gelatine und Chitosan sind klinisch weitgehend etabliert. PLGA-Nanoteilchen stellen ein etabliertes bioabbaubares und biokompatibles Trägersystem dar. Polymermicellen aus Blockcopolymeren, die thermisch und pH- oder enzymempfindliche Strukturen zeigen, haben das Interesse als Träger für hydrophobe Verbindungen geweckt. Vorzugsweise werden diese Systeme so entwickelt, dass ihre Selbstaggregation in der Gegenwart der einzuschließenden Pharmaka möglich ist. Dies wird ihre Anwendung in klinischen Bereichen deutlich erleichtern.

4.1.1. Liposomale Wirkstoffträger in der Chemotherapie

4.1.1.1. Doxorubicin

Doxorubicin wird für die Behandlung verschiedener Tumortypen bei Brustkrebs, Kaposi-Sarkom oder Eierstockkrebs eingesetzt. Das hoch toxische Antikrebsmittel greift aber nicht nur das Tumorgewebe an, sondern auch Herz und Nieren, wodurch seine therapeutische Bandbreite eingeschränkt wird. Deshalb wurde intensiv nach einer verträglicheren Formulierung gesucht. Forschungsarbeiten zum Einschluss von Doxorubicin in Liposomen mündeten in die heute zugelassenen nanomedizinischen Wirkstofftransportsysteme.^[204, 205] Liposomale Formulierungen reduzierten die Ausschüttung von Doxorubicin im Herz und im Nierensystem, während die Anreicherung im Tumorgewebe erhöht wurde.^[206, 207] Nanovektoren dieses Typs reichern sich wegen des EPR-Effekts in Tumoren an, d.h. eine charakteristische

Hyperpermeabilität des Tumorgewebes zieht eine erhöhte Wirkstoffabgabe im Tumor nach sich.^[208,209] Die Porengröße von Blut-Tumor-Barrieren hängt vom Ort des Tumors und von dessen Mikroumgebung ab und liegt gewöhnlich mit 300–800 nm im Größenbereich von liposomalen Trägern.^[210] Teilchen, die größer als 200 nm sind, aktivieren jedoch das Komplementsystem und provozieren damit die Clearance über Phagozytose. Das zu schnelle Entfernen von Nanoteilchen durch Phagozyten verkürzt aber die Zirkulationsdauer und verhindert eine kontrollierte Wirkstoff-Freisetzung über einen langen Zeitraum. Das Zirkulationsverhalten von Liposomen wurde durch eine Oberflächenmodifikation mit PEG verbessert.^[198] PEG reduziert die Clearance von Liposomen durch Phagozytose in der Leber und im Rückenmark beträchtlich, da es die Opsonierung an Makrophagen stark behindert.^[211] Hierdurch werden die Zirkulationsdauer des Trägers im Blut und der Zeitraum der Wirkstoff-Freisetzung verlängert, und die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von EPR-Phänomenen steigt. Anders als bei Liposomen ohne PEG-Überzug hat die Lipidzusammensetzung keine Auswirkungen auf die Erkennung und Entfernung von PEG-be- schichteten Liposomen.^[212,213]

Jüngere Studien zeigten eine beschleunigte Clearance von PEG-beschichteten Liposomen nach mehrfacher Injektion.^[214–216] Der Abbau dieser Träger erfolgt dabei im wesentlichen durch Leber- und Milzmakrophagen und hängt von einem oder mehreren löslichen hitzelabilen Serumfaktoren ab, die diese verstärkte Clearance bewirken. Der Effekt nimmt mit der Dauer der Behandlung ab und scheint mit der Lebensdauer der Makrophagen verknüpft zu sein, die zu Beginn der Behandlung in direktem Kontakt mit den injizierten Liposomen standen.^[214,217] Daher sollte bei der Festlegung der Injektionsintervalle solcher Träger die Makrophagenlebensdauer berücksichtigt werden.

Der Nachteil von Liposomen als Wirkstoffträger ist die Freisetzung der Wirkstoffe in die extrazelluläre Flüssigkeit, da Liposomen normalerweise nicht in Zellen eindringen können.^[214] Eine spezifischere Ausrichtung von liposomalen Wirkstoffträgern oder eine Aufnahme durch die Zellen ist daher wünschenswert, um die Toxizität zu reduzieren und die Wirksamkeit der eingeschlossenen Substanzen zu erhöhen (zweite und dritte Generation von Nanovektoren; siehe Abschnitt 3).

Gegenüber der indirekten Wirkstoffanreicherung durch EPR kann eine verbesserte spezifische Steigerung der Wirkstoffkonzentration im Tumor mithilfe von Antikörper-be- schichteten Liposomen erreicht werden. Vorteile dieser Immunliposomen sind die potenzielle Aufnahme durch Zellen das Zielgewebe, verknüpft mit einer erhöhten Toxizität gegen Tumorzellen, und eine verlangsamte Clearance, da die Freisetzung in Niere und Rückenmark reduziert wird. Zum Beispiel wurden monoklonale Anti-2C5-Antikörper an die Liposomenoberfläche gekuppelt, um eingeschlossenes Doxorubicin in Gehirntumore zu transportieren. Es konnte gezeigt werden, dass diese Antikörper in vivo spezifisch an die Zell-oberfläche menschlicher Astrozytomzellen binden.^[218] Der Antikörper ist gegen Nucleosome gerichtet, die sich auf lebenden Tumorzellen befinden und von benachbarten apoptotischen Tumorzellen stammen.^[219] Ein weiterer Ansatz, um

menschliche Gehirntumore in vivo zu behandeln, ist die Anwendung von sulfatidhaltigen Liposomen (SCL), die an bestimmte, in Tumorzellen hochregulierte Glycoproteine binden. Eine Anti-CD19-Markierung von Liposomen erwies sich als nützlich, um eine verbesserte Zielführung auf murine B-Zell-Lymphomzellen und die intrazelluläre Freisetzung von Doxorubicin aus den Liposomen zu erreichen.^[220] Diese Beispiele zeigen, dass vektorielle Systeme durch einen gezielten Wirkstofftransport und eine ortsspezifische Freisetzung die Therapie von Hirntumoren deutlich verbessern können. Allerdings hängt die Toxizität nicht nur vom Targeting ab, sondern sie ist auch stark verknüpft mit der Freisetzungscharakteristik der liposomalen Formulierung.^[220,221]

Andere Ansätze werden derzeit untersucht, um die Spezifität des Wirkstofftransports zu erhöhen. Eine jüngere Studie berichtet über temperaturempfindliche Liposome, die Doxorubicin beim Erwärmen freisetzen. Die spezifische Freisetzung von Antitumorwirkstoffen wurde in vivo nach selektivem Erwärmen des angegriffenen Tumors nachgewiesen; in diesem Fall wurde erwärmtes Wasser durch kleine Katheter zugeführt.^[222]

4.1.2. AmBisom/Amphotericin B

AmBisom ist eine liposomale Formulierung des Mycotiums Amphotericin B, das bei verschiedenen Pilzinfektionen und als empirische Therapie beim Verdacht einer Pilzinfektion bei fiebrigen neutropenischen Patienten angezeigt ist. Es kann auch zur Behandlung von viszeraler Leishmaniose eingesetzt werden. AmBisom besteht aus sehr steifen kleinen unilamellaren Liposomen mit einem mittleren Durchmesser unter 100 nm, in deren Membran Amphotericin B intercaliert ist. Derartige Liposomen haben eine lange Zirkulationsdauer und reichern sich in den betroffenen Gebieten an. In präklinischen und klinischen Studien zeigte AmBisom eine geringere Toxizität und weniger Nebenwirkungen als Amphotericin B, dessen antifungale Aktivität es aber beibehält.^[223] Anders als der reine Wirkstoff kann AmBisom daher auch Patienten mit Nierenschäden verabreicht werden. In Tierversuchen wurde gezeigt, dass AmBisom sich nicht gleichmäßig über das Nierengewebe verteilt, sondern sich in der Nähe der Pilzinfektion anreichert. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass AmBisom an die Pilzwände bindet und durch diese aufgenommen wird. Zusammenfassend reichert sich die liposomale Zubereitung von Amphotericin B an den infizierten Stellen an, sie ist stabiler und weniger toxisch als der freie Wirkstoff, und sie weist weniger Nebenwirkungen auf. Die ständige Freisetzung von Amphotericin B durch AmBisom konnte in Mäusen, die mit *Histoplasma capsulatum* in Kontakt gebracht wurden, auch für die Prophylaxe verwendet werden.^[224]

4.2. Polymerbasierte Freisetzungssysteme

Natürliche Polymere wie Proteine oder Polysaccharide werden von Zellen schnell internalisiert und abgebaut, was eine intrazelluläre Freisetzung von Wirkstoffen oder Genen ermöglicht.^[225] Die Blutzirkulationszeit oder Clearance ist

bestimmt durch die Oberflächenmodifizierung oder Polymerkonjugatbildung mit Polyethylenglycol (PEG).^[226] Ein aktuelles Beispiel für ein klinisch eingesetztes Polymernanoteilchen ist an Albumin gebundenes Paclitaxel (Handelsname: Abraxane) zur Behandlung von Patienten mit Brustkrebs, der resistent gegen herkömmliche Therapien ist.^[227,228] Diese Nanoteilchen sind in Wasser dispergierbar und benötigen daher kein Cremophor (das üblicherweise als Lösungsvermittler für freies Paclitaxel eingesetzt wird). Es ist bekannt, dass Cremophor allergische Reaktionen auslösen kann, wodurch die Wirkstoffdosierung begrenzt ist.^[229–231] Abraxan zeigte eine signifikant höhere Ansprechrate und eine verzögerte Tumorprogression, ohne dass Hypersensibilisierung auftrat.^[227] Allerdings wurde kürzlich über schwere Nebenwirkungen berichtet, die die laufende Debatte über die Sicherheit und den Wirkstoffmetabolismus von Nanoteilchen anheizten (siehe auch Abschnitt 6).^[232]

Eine vielversprechende Krebstherapie auf der Grundlage von passivem Targeting durch Wirkstoff-Polymer-Konjugate wurde von der Gruppe um Duncan vorgeschlagen. Wie bei Nanovektoren der ersten Generation wird bei diesem Ansatz die Tatsache genutzt, dass das neovaskuläre System im Tumor im Unterschied zum restlichen Gefäßsystem für Teilchen mit bestimmten Größen permeabel ist. Die Gruppe von Vincent berichtete über Apoptose induzierende Antikrebswirkstoffe, die an Nanoteilchen gekuppelt wurden, um ihre Wirksamkeit zu erhöhen.^[233,234]

In Abbildung 14 sind Möglichkeiten dargestellt, wie Wirkstoffe an Polymere gekuppelt werden können. Hier zeigt sich auch, dass die Erzeugung und Optimierung von Nanovektoren ein interdisziplinäres Gebiet zwischen Chemie, Biochemie und Medizin ist.

Die Kupplung von Proteinen und Wirkstoffen an synthetische Polymere, speziell PEG, verlängert ihre Plasmaverweildauer, reduziert die Proteinimmunogenität und kann ihre therapeutische Breite erhöhen. Mit PEG beschichtete Enzyme (wie L-Asparaginase) und Zytokine (einschließlich Interferon- α und des Granulozytenkolonie-stimulierenden Faktors) werden inzwischen klinisch eingesetzt.^[233,234]

4.3. Metallnanoteilchen

4.3.1. Nanokristallines Silber für die Wundversorgung

Silber, zumeist in Form von Nitraten und als Sulfadiazinsalz, ist ein gut untersuchter antimikrobieller Wirkstoff und ein gebräuchliches Mittel für die Wundbehandlung.^[235–237] Die Wundheilung kann in bestimmte Phasen unterteilt werden.^[238] Unmittelbar nach der Verletzung und Koagulation folgt eine Einwanderung von Leukozyten, die eine Entzündung hervorrufen. Dadurch wird die Wunde gereinigt und eine Mikrobeninfektion verhindert. Dieser Entzündungsphase schließt sich eine Phase des Gewebsaufbaus und der Reifung des neuen Gewebes an. Als Konsequenz einer latenten mikrobiellen Infektion kann die Entzündungsphase verlängert werden und zu chronischen, nicht heilenden Wunden führen. Eine medizinische Behandlung von chronischen Wunden mit Silbersalzen reduziert signifikant die bakterielle Besiedelung einer Wunde und ermöglicht eine

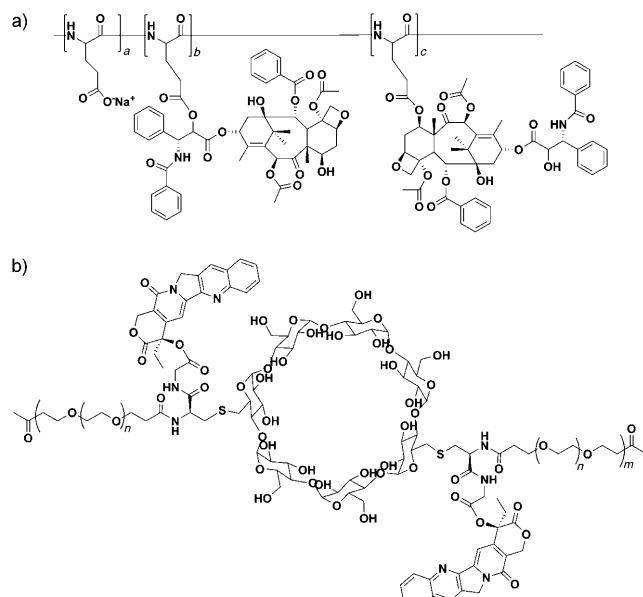


Abbildung 14. Polymerkonjugate von Antikrebswirkstoffen: a) Paclitaxel (PTX) ist über eine Estergruppe an den Träger Polyglutamat (PGA) gebunden. Der Wirkstoff wird hauptsächlich nach dem Polymerabbau durch das lysosomale Enzym Kathepsin B freigesetzt; b) Konjugat von Camptothacin (CPT) und einem linearen PEG-Polymer mit β -Cyclodextrin-Einheiten (CDP). Pharmakokinetische und präklinische Studien haben gezeigt, dass dieses Konjugat eine höhere Plasmahalbwertszeit aufweist als CPT alleine und besser von Tumorgewebe aufgenommen wird. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [234].

schnellere Heilung.^[239] Silber ist eine vielversprechende Alternative zur lokalen Antibiotikatherapie, die aufgrund der Entwicklung multiresistenter Bakterien nicht mehr eingesetzt werden soll. Eine Studie zur Resistenzbildung gegen Silber zeigte kürzlich keine entsprechende Entwicklung.^[240–242] Im Vergleich zu den für diesen Zweck verwendeten Antibiotika wirkt Silber zwar unspezifisch, jedoch ist die aktive Dosis sehr niedrig (im nm- bis μm -Bereich), und das Metall ist daher im allgemeinen hervorragend verträglich.^[242] Der Vorteil von nanokristallinem Silber gegenüber Silbersalzen ist nicht nur die erhöhte antimikrobielle Aktivität, sondern auch der entzündungshemmende Effekt.^[243] Allerdings müssen die Wirkungsmechanismen noch aufgeklärt werden. Die Anwendung von nanokristallinem Silber zur Wundbehandlung zeigt den Eingang der Nanobiotechnologie in einen weiteren Bereich der medizinischen Therapie. Zurzeit werden entsprechende Verbandmaterialien auch bei Verbrennungen ersten und zweiten Grades und bei verschiedenartigen chronischen, nicht heilenden Wunden eingesetzt.

4.3.2. Magnetische Nanoteilchen für Diagnose und Therapie

Eisen- oder Eisenoxidnanoteilchen haben ein großes Potenzial für verschiedene nanobiomedizinische Anwendungen einschließlich des Wirkstofftransports. Die Nanoteilchen lassen sich mit hydrophilen Polymeren wie PEG oder Dextran beschichten, um die Clearance in Zellen zu verhindern bzw. zu verstärken.^[244] Der Transport zu bestimmten Zellen

ist auch über die Beschichtung mit Antikörpern, rezeptor-spezifischen Peptiden oder Aminosilan möglich. Zusätzlich zu diesen allgemeinen Eigenschaften von Nanoträgersystemen bereiten der Superparamagnetismus der Teilchen und ihre Größe von 2–20 nm den Weg für weitere Anwendungen.

Derzeitige Forschungsprojekte und Anwendungen nutzen eisenhaltige Nanoteilchen hauptsächlich für In-vitro-Zellmarkierung und -Zelltrennung, In-vivo-Stofftransport, Kernspintomographie (MRI, siehe Abschnitt 2) und Hyperthermiebehandlung.^[245] Die Hyperthermie ist die bekannteste medizinische Anwendung von Eisennanoteilchen. Der Ausdruck beschreibt die Zerstörung von Tumoren durch lokales Überhitzen des Gewebes. Hyperthermiebehandlung ist eine effektive und spezifische Krebstherapie, da Krebszellen auf eine Temperaturerhöhung bis 44 °C schlechter reagieren als gesunde Zellen des behandelten Gewebes. Dieser Ansatz wird üblicherweise mit weiteren herkömmlichen Therapien kombiniert, z.B. mit einer Chemotherapie. Bei Hyperthermiebehandlungen mit Eisenoxidnanoteilchen werden diese durch ein magnetisches Wechselfeld erwärmt.^[203,246] Nach einer lokalen Anreicherung der Nanoteilchen gelingt eine gewebsspezifische Hyperthermie, die vorzugsweise das Tumorgewebe adressiert (Abbildung 15).

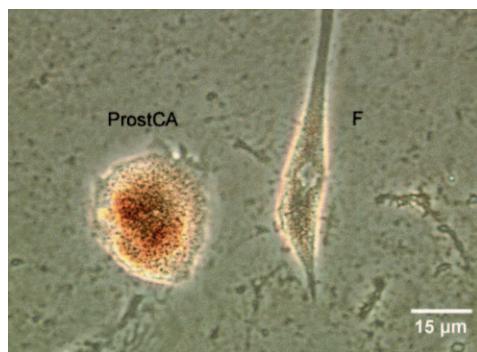


Abbildung 15. Vergleich einer gesunden Zelle mit einer Tumorzelle nach der Inkubation mit Nanoteilchen. Unter dem Phasenkontrastlichtmikroskop lassen sich Prostatakarzinomzellen und Fibroblasten gut unterscheiden: Während die Tumorzelle (links) viele Nanoteilchen aufnimmt und daher eine merkliche Pigmentierung zeigt, weist der benachbarte Fibroblast eine geringe Pigmentierung auf, d.h. keine oder kaum Teilchenaufnahme. Wiedergabe mit Genehmigung von Elsevier.^[246]

Die Vorteile gegenüber klassischen Krebstherapien sind ein minimal invasives Vorgehen, Zugang zu verborgenen Tumoren und sehr geringe Nebenwirkungen. Bei einer Erwärmung des Gewebes mit herkömmlichen Verfahren (Microwellen, Laserlicht usw.) wird das gesunde Gewebe in der Umgebung des Tumors ebenfalls zerstört. Die zielgerichteten paramagnetischen Teilchen sorgen dagegen für eine hoch lokalisierte Energieabsorption und Erwärmung hauptsächlich der Krebszellen. Mehrere Arten von Nanoteilchen, die sich in Zusammensetzung und Form voneinander unterscheiden, sind für diesen Zweck verfügbar; eine Hyperthermiebehandlung kann auch mit kationischen Magnetitliposomen

(MCLs) als Trägersystem in Kombination mit Hitzeschockproteinen eingesetzt werden. Aufgrund ihrer geringen Nebenwirkungen wird die Behandlung sehr gut von Patienten akzeptiert.^[203,247–249]

Superparamagnetische Eisenoxidteilchen wurden auch für MRI-Untersuchungen genutzt.^[245] Dextranbeschichtete eisenhaltige Teilchen sind unter den Handelsnamen Resovist und Feridex erhältlich und wurden hauptsächlich für In-vivo-MRI von Lebertumorzellen eingesetzt. Die Dextranbeschichtung verstärkt die Anreicherung der Teilchen in der Krebszelle, was die Diagnose und die Verfolgung der Tumorprogression ermöglicht. Eisenteilchen werden von Leberzellen aus dem Blutstrom entfernt, wobei sie in das retikuloendothiale System eingehen und dann dem physiologischen Eisenpool zugeführt werden.

4.4. Nanoschalensysteme

Andere Hyperthermiekonzepte nutzen Gold-Silicium-oxid-Nanoschalen, in denen dielektrische Nanokügelchen von einer dünnen leitfähigen Metallschicht umgeben sind. Die Nanoteilchen absorbieren NIR-Licht, das das Gewebe optimal durchdringt. Eine mäßige Bestrahlung mit einer extrakorporalen IR-Lichtquelle (820 nm, 4 W cm⁻²) resultierte in einer Erwärmung des Tumorgewebes und verursachte irreversible Schäden, die anhand von Koagulation, Zellschrumpfung und dem Verlust der Kernfärbung zu erkennen waren.^[164] Der große Vorteil von Nanoschalensystemen ist die einstellbare Plasmonenresonanz im sichtbaren bis hin zum infraroten Bereich durch Variation der Zusammensetzung und der Schichtdicken.

Nanoschalensysteme werden nicht nur für die Behandlung von Krebs, sondern auch für diagnostische Zwecke untersucht, beispielsweise zur Erhöhung der Auflösung in optischen Kohärenztomographie(OCT)-Aufnahmen. Die Anwendungen der OCT reichen von der Ophthalmologie bis zur Rekonstruktion von ganzen Hirnteilen. Weitere erwähnenswerte Abbildungsverfahren mit NIR-Licht sind konfokale Bildgebung, Iridotomie und photothermische Koagulation, die allesamt die erhöhte Transparenz des Gewebes in diesem Spektralbereich nutzen.^[250]

4.5. Nicht injizierbare Nanovektoren

Da Wirkstoffe bevorzugt oral in den Körper eingebracht werden, beschäftigt sich die pharmazeutische Industrie intensiv mit der Entwicklung entsprechender Trägersysteme, die durch nanotechnologische Ansätze verbessert werden können. Nanokügelchen aus Hydrogelen – stabilen organischen Verbindungen, die beim Übergang in eine saurere Umgebung aufquellen – wurden erfolgreich als Tabletten und Kapseln formuliert, die eingeschlossene aktive Verbindungen in Abhängigkeit vom pH-Wert kontrolliert freisetzen.

Nanoteilchen können auch effiziente Transportsysteme für Wirkstoffe darstellen, die die Blut-Hirn-Schranke überwinden müssen, wie Chemotherapeutika für Gehirnerkrankungen, Antiepileptika und Anästhetika (z.B. Dalargin).

Polysorbat-80-beschichtete Partikel, die mit Doxorubicin (5 mg kg^{-1}) beladen waren, ergaben im Gehirn sehr hohe Doxorubicin-Konzentrationen von $6 \mu\text{g g}^{-1}$, während alle Kontrollproben, einschließlich unbeschichteter Nanoteilchen und gemischter Lösungen von Doxorubicin und Polysorbat, nicht einmal die Nachweisgrenze erreichten.^[251] Ein kürzlich entwickeltes System besteht aus Chitosan, das über PEG-Linker an Antikörper gekuppelt ist. Diese Immunnanoteilchen können einerseits über das positiv geladene Chitosan mit den negativen Ladungen des Gehirnendothels wechselwirken, andererseits zeigen sie die Affinität des monoklonalen Antikörpers OX26 zum endothelialen Transferrinrezeptor, sodass sie die Blut-Hirn-Schranke leicht überwinden können. Eine weitere Anwendung sind Nanokügelchen, an die das Peptid Z-DEVD-FMK, ein Inhibitor der Caspase-3, gekuppelt ist. Die Inhibition dieses Enzyms erhöht erwiesenermaßen die Überlebensrate von neuronalen Zellen nach cerebralen Ischämien.^[252]

Implantierbare Wirkstofffreisetzungssysteme, die nanotechnologisch verbessert wurden, werden oft gegenüber der Injektion von Wirkstoffen bevorzugt. Beispielsweise steigt die Konzentration im Blut nach der Injektion rasch an (was zu Nebenwirkungen führen kann) und nimmt danach über die Zeit langsam wieder ab, wobei die therapeutisch relevante Wirkstoffkonzentration unterschritten werden kann. Dagegen können Freisetzungssysteme den Spitzenwert im Plasma minimieren, das Risiko von Nebenwirkungen und die Frequenz der Nachdosierung reduzieren und somit die Verträglichkeit für den Patienten verbessern. Die Vorteile der Nanotechnologie in diesem Bereich lassen sich anhand von bioabbaubarem porösem Silicium (pSi) darlegen. Derartige nanostrukturierte Materialien speichern eine aktive Verbindung oder Nanoteilchen der zweiten Stufe in Nanoporen, die geringste Wirkstoffmengen freisetzen, während sich das Silicium auflöst. pSi wird derzeit für das „Tissue-Engineering“ und für ophthalmologische Wirkstofftransportsysteme untersucht.^[253,254]

Nanotechnologische Systeme erleichtern auch die Aufnahme durch die Haut, eine sichere, nichtinvasive Methode der Wirkstoffverabreichung. Die Aufnahme von Proteinen mit hohem Molekulargewicht (wie Impfstoffen) ist relativ ineffizient, wenn diese Substanzen direkt auf die Haut aufgebracht werden. Neuere Befunde weisen darauf hin, dass diese Barriere durch strukturierte Nanoteilchen überwunden werden kann.^[255]

Schließlich können nanoskalige Systeme auch eingesetzt werden, um toxische Substanzen unschädlich zu machen. Kolloidale Dispersionen dienen zur Entfernung lebensgefährlicher Verbindungen aus dem Blut, einschließlich hoher Konzentrationen von lipophilen Therapeutika und Drogen.^[256,257]

5. Nanobeschichtungen und nanostrukturierte Oberflächen für medizinische Anwendungen

Parallel zur Entwicklung von Nanoteilchen wächst das Wissen über die Nanostrukturierung von Oberflächen sehr schnell. Die medizinische Forschung zu nanostrukturierten

Oberflächen konzentriert sich hauptsächlich darauf, die Wechselwirkung von Prothesen wie künstlichen Hüftgelenken mit dem Organismus zu optimieren, um Materialien zu erhalten, die sich fest mit dem Körpergewebe verbinden. Auf diese Weise sollen Nebenwirkungen wie chronische Entzündungen oder Allergien vermieden werden. Durch die Nanostrukturierung lassen sich Oberflächeneigenschaften wie Ladung, Leitfähigkeit, Rauigkeit, Porosität, Benetzungsbarkheit, Reibung, physikalische und chemische Reaktivität und Kompatibilität mit Organismen einstellen. Speziell in den Bereichen künstliche Organe und Prothetik wächst der Bedarf an „intelligenten“, biokompatiblen Oberflächen.^[258–263]

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit liegt darin, eine Vielzahl von Verbundmaterialien und selbstorganisierten Systemen nachzustellen, wie sie in der Natur im Überfluss zu finden sind. Komplexe Strukturen wie ganze Zellen und kleinere Unterstrukturen wie gefaltete Proteine oder molekulare Motoren stellen eine Art von selbstorganisierter Nanomaschinerie dar. Die Natur macht beim Aufbau dieser Strukturen erfolgreich Gebrauch von dynamischen molekularen Systemen. Wenn es gelingt, dieses Konzept zum Teil auf synthetische Systeme zu übertragen, so könnte dies zu neuen Entwicklungen führen, die nicht mit bekannten Massenproduktionsverfahren kompatibel sind.

Eine Nanostrukturierung kann physikalisch, chemisch oder durch Selbstorganisation erfolgen. Die vielleicht bekannteste natürliche Oberflächenstruktur findet sich auf Lotusblättern. Ihre speziell strukturierte Oberfläche mit einer typischen bimodalen Größenverteilung im Mikrometer- und Submikrometerbereich führt zu einem Selbstreinigungs-Effekt. Ein weiteres Beispiel ist die Manipulation des Zellverhaltens durch Veränderung der Oberflächenstruktur, während die chemische Zusammensetzung in etwa gleich gehalten wird. Dies wurde kürzlich durch die Gruppe von Spatz demonstriert: Bei der Veränderung des Abstands zwischen funktionalisierten Goldteilchen, die auf einer Oberfläche abgeschieden waren, wurde ein unterschiedliches Wachstums- und Anlagerungsverhalten von Fibroblasten beobachtet (Abbildung 16).^[264–266] In einem weiteren Ansatz nutzten Sun et al. die Enantiomere von N-Isobutyryl-L(D)-cystein (NIBC), um das Absorptionsverhalten von Oberflächen zu verändern.^[267]

Das Verständnis dieser Effekte eröffnete Wege für die Erzeugung von Oberflächen, die nicht bewachsen werden, und von Oberflächen, die eine optimierte Templatstruktur für ein spezifisches Zellwachstum aufweisen. Titanlegierungen mit nanostrukturierten Hydroxyapatitbeschichtungen zeigen beispielsweise verbesserte mechanische Eigenschaften, und sie fördern die Proliferation von Osteoblasten.^[268] Diese Ergebnisse sind interessant im Hinblick auf die Entwicklung von Implantatmaterialien.

Die Oberflächenmodifizierung mit Nanoröhren half bei der Inkorporation künstlicher Gelenke, ohne chronische Entzündungen auszulösen.^[269,270] Die maßgeschneiderten Oberflächen haben den Vorteil, natürliche Strukturen nachzuahmen, und zwar nicht nur über die Beschichtung mit anorganischen Materialien, sondern auch durch die Anlagerung von Proteinen oder Peptiden, um natürliche Bedingungen

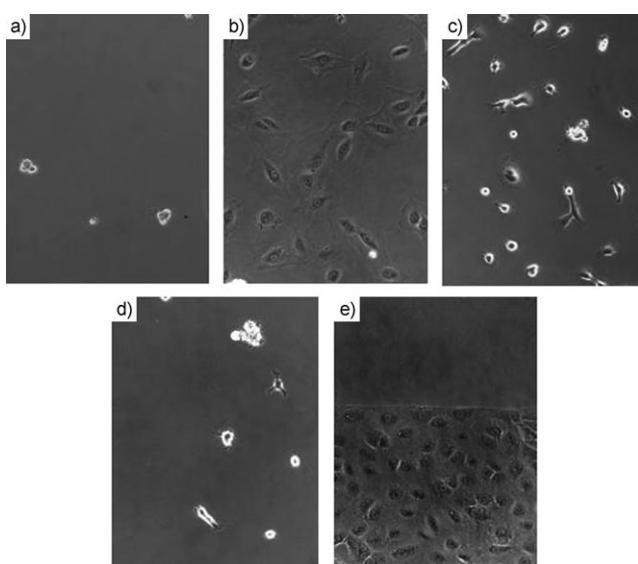


Abbildung 16. Optische Phasenkontrastaufnahmen von 3T3-Fibroblasten auf Polyethylenglycoldiacrylat(PEGDA)-700-Hydrogel. a) Zellen auf einem nicht RGD-funktionalisierten Goldnanoteilchenmuster. b–d) Zellen auf cyclo(-RGDFK-)funktionalisierten Goldteilchen nach 24 h in Kultur; die cyclo(-RGDFK-)Flecken befinden sich in unterschiedlichen Abständen voneinander: b) 40 nm, c) 80 nm und d) 100 nm. e) Dichte Schichten auf einem PEG-Träger nach 14 Tagen in Kultur. Der untere Teil der Probe wurde mit Goldnanoteilchen, die mit dem Peptid cyclo(-RGDFK-) funktionalisiert waren, in Abständen von 40 nm strukturiert. Wiedergabe mit Genehmigung nach Lit. [266].

nachzustellen. Der nächste Schritt in dieser Entwicklung ist die Anwendung auf das Gebiet der Bionik. Der Austausch zwischen lebenden Strukturen und synthetischen Konstrukten ist ein vielversprechender Weg, da im Zuge der Evolution bereits geeignete Materialien und Prozesse entwickelt wurden. Außer für die Prothetik ist dieser Ansatz auch aussichtsreich für neuronale Anwendungen.

Nanostrukturierte Oberflächen mit spezifischen Eigenschaften finden ihren Weg auch in diagnostische Ansätze. Oft scheitert die Untersuchung von Zellen an nachteiligen Wechselwirkungen zwischen der Zelle und dem Diagnoseelement. Dies ist insbesondere der Fall, wenn Immunzellen betrachtet werden. Rezeptoren auf der Oberfläche von Leukozyten wechselwirken unspezifisch mit künstlichen Strukturen, was zur ungewünschten Aktivierung oder Differenzierung der Zellen führt. Hier werden Oberflächen benötigt, die nach dem Kontakt keinerlei Aktivierung verursachen. Gleicher gilt für alle Mikrofluidikbauelemente oder Oberflächen, die für Biochips und Proteomik eingesetzt werden.^[271–273]

Durch den Einsatz von responsiven molekularen Systemen ist es möglich, zwischen verschiedenen Zuständen von funktionalisierten Oberflächen (z.B. superhydrophob und superhydrophil) durch externe Reize (z.B. elektrische oder optische Felder, Veränderungen des pH-Werts) hin und her zu schalten. Diese Beschichtungen sind interessant für diagnostische Zwecke in „Lab-on-a-chip“-Systemen oder für die Beschichtung von künstlichen Blutgefäßen und Implantaten, die so biologische Systeme nachahmen.

6. Biokompatibilität und Toxizität – Sicherheitsfragen beim Einsatz von Nanotechnologie

Die Erzeugung kleiner Teilchen kann im Hinblick auf die Toxikologie bedenklich sein. Wegen der potenziell hohen Reaktivität, bedingt durch das höhere Oberflächen-Volumen-Verhältnis als bei ausgedehnten dreidimensionalen Systemen, besteht bei allen Nanosystemen ein latentes Risiko, das sorgfältig untersucht werden muss. Zurzeit erscheinen die gesetzlichen Bestimmungen für neue Chemikalien und pharmazeutische Materialien ausreichend, um auch diese Art von Materialien toxikologisch zu bewerten, jedoch muss jedes neue Nanoteilchensystem im Hinblick auf potenzielle Nebenwirkungen im menschlichen Körper und in der Umwelt untersucht werden. Glücklicherweise ist die Aufmerksamkeit in Wissenschaft und Öffentlichkeit sehr hoch, und diese ethischen und gesellschaftlichen Themen werden intensiv diskutiert. Die klinische Anwendung von Nanotechnologie erfordert auch eine Reihe von Richtlinien, um eine zuverlässige Handhabung der neuen medizinischen Hilfsmittel und Wirkstoffe sicherzustellen.^[274–277] Das Potential einer molekularen Diagnostik und Analyse auf der Grundlage von Nanotechnologie und Nanomedizin bedarf auch der Aufmerksamkeit der Politik. Dies schließt die oben erwähnten toxikologischen Aspekte, aber auch die ethische Frage der Verbesserung der Lebensqualität im Fall von schweren Erkrankungen, kosteneffiziente Behandlungen von Patienten, die künstliche Erweiterung unserer natürlichen Sinne, neuroelektronische Kontaktssysteme usw. ein, die möglicherweise nur für eine begrenzte Zahl von Menschen verfügbar sein werden.

Das toxikologische Risiko für die menschliche Gesundheit erwächst aus der Wechselwirkung mit „medizintechnischen Geräten“. Nach einer Definition der „EU Medical Device Directive“ erfüllen „medizintechnische Geräte“ folgende Funktionen:

- Diagnose, Verfolgung, Behandlung oder Schmerzlinderung von oder Kompensation für eine Verletzung oder Behinderung;
- Untersuchung, Ersatz und Modifizierung der Anatomie oder eines physiologischen Prozesses;
- Kontrolle von Konzepten, deren Nutzen nicht in oder auf dem menschlichen Körper durch pharmakologische, immunologische oder metabolische Mittel liegt, sondern diese unterstützt.

Wenn man Nanoteilchen als „medizintechnische Geräte“ ansieht, so zeigt dies, dass sie für einen breiten Anwendungsbereich im menschlichen Körper eingesetzt werden können.^[278,279] Ihre mögliche Inkompatibilität, die in Entzündungen, Immunreaktionen oder gar Krebs resultieren kann, bildet jedoch ein potenzielles Anwendungshindernis. Die Mechanismen hinter derartigen Prozessen sind noch nicht gut untersucht, könnten aber von einer verstärkten hydrophoben Wechselwirkung mit biologischem Material oder einer verstärkten Erzeugung von freien Radikalen durch katalytische Prozesse an der Oberfläche herrühren.^[198] Experimente haben gezeigt, dass besonders die Inhalation von Nanoteilchen mit einer Größe unter 100 nm aus Luftverun-

reinigungen zu Lungenentzündungen führen kann. In diesem Fall bestimmt die individuelle Expression von Glutathion-S-transferase (GST) die Intensität der Entzündung. Interessanterweise ist die physiologische Aufgabe von GST die Entgiftung von reaktiven Sauerstoffspezies, was auf deren Erzeugung auf den Oberflächen solcher Teilchen hinweist.^[280,281] Vergleichbare Daten wurden auch bei der Inhalation von einwandigen Kohlenstoffnanoröhren (SWCNs) gefunden. An Mäusen wurde gezeigt, dass SWCNs Entzündungen in der Lunge auslösen. In Rattenalveolen verursachen sie kleine, fokale interstitielle fibrotische Läsionen.^[282,283]

Die Diskussion über die Risiken von Kohlenstoffnanoröhren wurde kürzlich durch Poland et al. neu angefacht. Sie behaupteten, dass diese Art von Nanoteilchen wegen ihrer nadelförmigen Struktur in derselben Weise wie Asbest wirken könne, was folglich das gleiche Risiko für die Anwender bedeute.^[284] In einer weiteren Untersuchung schienen hoch gereinigte Kohlenstoffnanoröhren keine Kurzzeittoxizität aufzuweisen und biokompatibel mit Kardiomyozyten in Kultur zu sein, wohingegen negative Langzeiteffekte eher auf physikalische als auf chemische Wechselwirkungen zurückgeführt wurden. Dieser Effekt wurde in der Gruppe von Krug untersucht. Sie zeigten, dass die Nanoteilchen keine akute Zytotoxizität aufweisen und keinerlei Entzündungsmarker wie Stickstoffmonoxid oder Interleukin-8 induzieren. Beobachtete Nebenwirkungen konnten mit Spuren von Metallen in Verbindung gebracht werden, wie sie in kommerziell erhältlichen Nanoteilchen zu finden sind.^[285] Die Zytotoxizität verschiedenartiger Nanoteilchen wurde kürzlich in einer Übersicht von Lewinski et al. zusammengefasst, die in eindrucksvoller Weise die Vielfalt von Wechselwirkungen zwischen Fremdkörpern und Zellen zeigten.^[286]

Nanoteilchen, die in den Organismus eingedrungen sind und nicht ausgeschieden werden, reichern sich in Zellen und im Gewebe an. und stellen auf längere Sicht ein noch unbekanntes Potenzial von Krankheitsursachen dar. Es wurde gezeigt, dass Nanoteilchen über mehrere Pforten in den menschlichen Körper eindringen können. Ein zufälliger oder unfreiwilliger Kontakt findet am wahrscheinlichsten über die Lunge statt; von dort ist eine schnelle Translokation zu anderen Organen möglich, wie in Tiermodellen demonstriert wurde.^[287] Auf der zellulären Ebene können Nanoteilchen als Genvektoren wirken.^[288] Kohlenstoffnanoteilchen wurden mit Störungen des Zellsignalsystems in Verbindung gebracht.^[289,290]

Darüber hinaus reicherten sich Partikel, die für die orale Wirkstoffzuführung eingesetzt wurden, im Lebergewebe an, wo sie durch übermäßige Immunreaktionen bleibenden Schaden anrichten können.^[291] Diese Anreicherung in Zellen ist auch für Lungenfibrosen dokumentiert, die durch Asbestfasern hervorgerufen werden (Asbestose), sowie für die Silikose, die durch das Einatmen von Silicaten oder Quarzstaub entsteht.^[292–294]

Inzwischen konnte gezeigt werden, dass eine (hohe) Konzentration von Nanoteilchen dazu führen kann, dass Zellen in einen tumorösen Zustand transformieren. Raster-elektronenmikroskopie(SEM)-Bilder und Röntgenmikroanalysen (EDS) von Leber- und Nierengeweben, die durch kryptogenische Granulomatose beeinträchtigt waren, zeigten

eine Zusammenhang zwischen der Anwesenheit von nicht bioabbaubaren exogenen Mikro- und Nanoteilchen und Krankheiten mit bislang unbekannten histopathologischen Merkmalen (Abbildung 17).^[295]

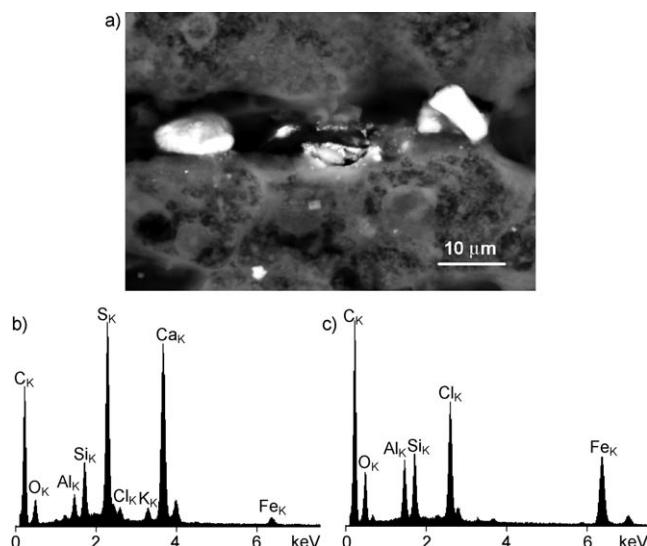


Abbildung 17. a) Das SEM-Bild eines Dünnschnitts von granulomatösem Lebergewebe zeigt zwei kleine Teilchen und einen Cluster von Nanoablagerungen. b,c) EDS-Spektren belegen, dass die Ablagerungen unterschiedliche chemische Zusammensetzungen haben und wahrscheinlich aus unterschiedlichen Quellen stammen. Wiedergabe mit Genehmigung von Elsevier.^[295]

Es ist bekannt, dass Ablagerungen, die durch Abrieb in Hüftprothesen erzeugt werden, eine Entzündungsreaktion und eine lokale Fremdkörpergranulomatose hervorrufen können. Darüber hinaus ist eine Migration und Verbreitung in weit entfernte Teile des Körpers dokumentiert, die weitere Krankheitsbilder verursachen kann. Bisher ist keine effiziente gastrointestinale Barriere für inerte Teilchen mit einem Durchmesser unter 20 µm bekannt. Als Quelle solcher Fremdkörper wurden abgenutzte Zahnersatzmaterialien wie Porzellan oder Gold-Ruthenium-Legierungen identifiziert. Ein weiteres Beispiel ist das weit verbreitete Kontrastmittel Bariumsulfat, das in der Gastroenteroskopie eingesetzt wird. Die Migration von Bariumsulfatteilchen ins Lebergewebe ist ein Hinweis dafür, dass kleine Teilchen die intestinale Barriere überwinden können.^[159,296]

Nanoteilchen, die in der Therapie als Wirkstofftransporter genutzt werden, wechselwirken mit Biomolekülen in der Lunge, dem Gastrointestinaltrakt oder dem Endothel. Der Kontakt kann in der Aufnahme über Endozytose (vermittelt durch Rezeptoren), im Fall hydrophober Teilchen durch das Durchdringen der Membran oder im Fall sehr kleiner Nanoteilchen (< 5 nm) über Membrankanäle erfolgen.^[297] Eine Strategie, um die Aufnahme durch die Zelle zu verhindern und damit die Zytotoxizität von Nanoteilchen mit Größen unter 100 nm zu kontrollieren, ist die Modifizierung ihrer Oberfläche mit hydrophilen Polymeren.^[244]

In wässrigen Medien adsorbieren sowohl verschiedenartige Biomoleküle als auch Chemikalien wie Pestizide an Na-

nopartikel. Diese adsorbierten Moleküle bestimmen die biologischen Wechselwirkungen, speziell die Bioverfügbarkeit und die Aktivierung von Zellen. Ein Beispiel für die Wechselwirkung von Nanoteilchen mit Biomolekülen ist die Bindung von C₆₀-Fullerenen an Antikörper. Neuere Berichte beschreiben eine zytotoxische Wirkung von C₆₀-Fullerenen über Lipidperoxidation. In Organismen können alle extrazellulären Proteine wie komplementäre Proteine oder Antikörper an Nanoteilchen adsorbieren. Während der Adsorption können Proteine ihre Konformation und folglich ihre Reaktivität verändern, was in einer Autoimmunantwort resultieren kann.^[298,299]

Um die Risiken der Nanotechnologie abzuwägen, werden Hochdurchsatzverfahren und standardisierte Testmethoden entwickelt, mit deren Hilfe sich z.B. die Wechselwirkungen von Nanoteilchen mit biologischen Barrieren untersuchen lassen. Eine etablierte Methode zur Überprüfung der Integrität von biologischen Barrieren ist die Messung des trans-epithelialen elektrischen Widerstands (TER); diese Methode wurde auf Toxizitätstests an Nanoteilchen abgestimmt und für Routineanwendungen weiterentwickelt.^[300–303] Erste Ergebnisse zeigten beispielsweise, dass silicatische Nanoteilchen zunächst keinen Effekt auf Hundenerzenzellen (MDCK) haben, jedoch war nach 150 Stunden eine Abnahme des TER-Werts zu beobachten, die auf ein Auseinanderbrechen des Epithelverbands hinweist.^[304] Daraus zeigt sich die Bedeutung von Langzeitstudien bei der Untersuchung der Toxizität von Nanoteilchen. Derartige Studien zu einem breiteren Spektrum von Nanoteilchen werden dazu beitragen, die Wechselwirkungen zwischen Nanoteilchen und biologischen Systemen im Detail zu verstehen.

Diese wenigen Beispiele demonstrieren, dass Therapieansätze auf der Grundlage von Nanotechnologie ebenso wie herkömmliche Medikationsverfahren zwei Seiten haben. Viele der bisher untersuchten Systeme scheinen verhältnismäßig geringe Kurzzeitsrisiken mit sich zu bringen. Dennoch ist eine systematische Risikoabschätzung parallel zur technischen Entwicklung unerlässlich, um das Gefahrenpotenzial möglichst gering zu halten.

7. Zusammenfassung und Ausblick

Die Anwendungsmöglichkeiten der Nanotechnologie in der Diagnose, Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten sind sehr breit. Über Kreativität und wissenschaftliche Visionen hinaus verlangt der praktische Einsatz der Nanomedizin aber anwendungsnahes Denken und eine systematische Entwicklung.

In diesem Aufsatz geben wir eine Übersicht über einige faszinierende Fortschritte der nanomedizinischen Forschung und Anwendung. Da sich das Feld rasant entwickelt, konnten wir nicht alle gegenwärtigen Möglichkeiten und Perspektiven im Detail aufgreifen. Unser Ziel war es daher in erster Linie, den transdisziplinären Charakter der Nanomedizin aufzuzeigen und auf Entwicklungen in den Natur- und Ingenieurwissenschaften hinzuweisen, die klinische Therapie- und Diagnoseverfahren voranbringen könnten. Die Nanotechnologie hat bereits einen deutlichen Einfluss auf klinische Anwen-

dungen, und es ist zu erwarten, dass sich diese Entwicklung in den nächsten Jahren noch verstärken wird.

Nanomedizin beruht auf:

- chemischen Verfahren, um die Oberflächen von Nanovektoren zur Konjugation von Wirkstoffen zu modifizieren und die Biokompatibilität von Implantaten zu verbessern;
- biologischem und pathophysiologischem Wissen über Krankheiten, das zur Entwicklung effizienter Therapien erforderlich ist;
- Kenntnissen über die physikalischen Eigenschaften mehrstufiger komplexer Nanosysteme, die die Entwicklung und Optimierung neuer Diagnose- und Therapiekonzepte ermöglichen.

Der Schwerpunkt liegt bei der klinischen Nanomedizin zurzeit auf der Diagnose und Behandlung von Tumorerkrankungen. Um z.B. die Entwicklung von Tumorzellen frühzeitig zu erkennen, ist es notwendig, Modifizierungen der Zellen auf molekularer Ebene schon während ihrer Entstehung zu detektieren. Das kann nur mit äußerst empfindlichen Techniken gelingen. In dieser Hinsicht sind nanotechnologische Konzepte interessant, mit deren Hilfe sich einzelne Zellen adressieren lassen. Die Erkenntnisse, die auf dem Gebiet der Nanomedizin gewonnen werden, bilden die Grundlage für die Entwicklung einer individuellen Medizin.

Wir bedanken uns bei unseren Kollegen für die Bereitstellung des Bildmaterials. Wir danken K. Hardes für Unterstützung bei Verfassen des Manuskripts, B. Schneider für das Vortitelbild und C. Gorzelanny für hilfreiche Diskussionen und Anregungen. K. Riehemann und H. Fuchs danken dem BMBF (FKZ 0312025A) und S. W. Schneider der DFG (SPP13113; Schn 474/2-1) und der „Interdisziplinären Medizinischen Forschung“ (IMF, Münster) für finanzielle Unterstützung. M. Ferrari und B. Godin danken für die Unterstützung durch den „Emerging Technology Fund“, NIH, NCI des Staates Texas (R01AI128797), dem Department of Defense (W81XWH-07-2-0101) und der NASA (NNJ06HE06A) sowie Matthew Landry für die Anfertigung von Grafiken.

Eingegangen am 3. Juni 2008

-
- [1] R. P. Feynman in *Nanotechnology: Research and Perspectives* (Hrsg.: J. Lewis), MIT Press, Boston, **1992**, S. 347.
 - [2] H. Gleiter, *Prog. Mater. Sci.* **1989**, 33, 223.
 - [3] G. Binnig, H. Rohrer, C. Gerber, E. Weibel, *Phys. Rev. Lett.* **1982**, 49, 57.
 - [4] National Nanotechnology Initiative. *Leading to the Next Industrial Revolution. A Report by the Interagency Working Group on Nanoscience, Engineering and Technology.* **2000**. Washington, DC: Committee on Technology, National Science and Technology Council.
 - [5] G. Oberdorster, E. Oberdorster, J. Oberdorster, *Environ. Health Perspect.* **2007**, 115, A290.
 - [6] W. Vogelsberger, *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107, 9669.
 - [7] M. Ferrari, *Nat. Nanotechnol.* **2006**, 1, 8.
 - [8] D. Gurwitz, G. Livshits, *Eur. J. Hum. Genet.* **2006**, 14, 376.
 - [9] SEER Cancer Statistics Review; 1975–2003. (Hrsg.: L. A. G. Ries, D. Harkins, M. Krapcho, A. Mariotto, B. A. Miller, E. J. Feuer, L. Clegg, M. P. Eisner, M. J. Horner, N. Howlader, M.

- Hayat, B. F. Hankey, B. K. Edwards), National Cancer Institute, Bethesda, MD, **2004**.
- [10] D. K. Pettit, W. R. Gombotz, *Trends Biotechnol.* **1998**, *16*, 343.
- [11] G. Tosi, L. Costantino, B. Ruozi, F. Forni, M. A. Vandelli, *Expert Opin. Drug Delivery* **2008**, *5*, 155.
- [12] C. H. Liu, S. Huang, J. Cui, Y. R. Kim, C. T. Farrar, M. A. Moskowitz, B. R. Rosen, P. K. Liu, *FASEB J.* **2007**, *21*, 3004.
- [13] O. C. Farokhzad, S. Jon, A. Khademhosseini, T. N. Tran, D. A. Lavan, R. Langer, *Cancer Res.* **2004**, *64*, 7668.
- [14] D. K. Maurya, W. Y. Ng, K. A. Mahabadi, Y. N. Liang, I. Rodriguez, *Biotechnol. J.* **2007**, *2*, 1381.
- [15] V. N. Truskett, M. P. Watts, *Trends Biotechnol.* **2006**, *24*, 312.
- [16] K. B. Lee, J. H. Lim, C. A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5588.
- [17] A. Bruckbauer, D. Zhou, L. Ying, Y. E. Korchev, C. Abell, D. Klenerman, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9834.
- [18] J. Zimmermann, M. Rabe, D. Verdes, S. Seeger, *Langmuir* **2008**, *24*, 1053.
- [19] D. Geho, M. M. Cheng, K. Killian, M. Lowenthal, S. Ross, K. Frogale, J. Nijdam, N. Lahar, D. Johann, P. Herrmann, G. Whiteley, M. Ferrari, E. Petricoin, L. Liotta, *Bioconjugate Chem.* **2006**, *17*, 654.
- [20] A. J. Nijdam, C. M. Ming-Cheng, D. H. Geho, R. Fedele, P. Herrmann, K. Killian, V. Espina, E. F. Petricoin III, L. A. Liotta, M. Ferrari, *Biomaterials* **2007**, *28*, 550.
- [21] D. Hanahan, R. A. Weinberg, *Cell* **2000**, *100*, 57.
- [22] J. V. Sweedler, E. A. Arriaga, *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *387*, 1.
- [23] Y. Wang, G. Young, M. Bachman, C. E. Sims, G. P. Li, N. L. Allbritton, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 2359.
- [24] D. Patel, *Separating cells*, Springer, Berlin, **2001**.
- [25] C. E. Sims, M. Bachman, G. P. Li, N. L. Allbritton, *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *387*, 5.
- [26] S. Sharma, R. W. Johnson, T. A. Desai, *Langmuir* **2004**, *20*, 348.
- [27] A. Kikuchi, T. Okano, *J. Controlled Release* **2005**, *101*, 69.
- [28] J. A. Ferguson, F. J. Steemers, D. R. Walt, *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 5618.
- [29] F. J. Steemers, J. A. Ferguson, D. R. Walt, *Nat. Biotechnol.* **2000**, *18*, 91.
- [30] R. Tomellini, U. Faure, O. Panzer, „Nanotechnology for Health: Vision Paper and Basis for a Strategic Research Agenda for NanoMedicine“, European Technology Platform on NanoMedicine, September **2005**, <http://cordis.europa.eu/nanotechnology/nanomedicine.htm>.
- [31] X. Zhu, M. Gerstein, M. Snyder, *Genome Biol.* **2006**, *7*, R110.
- [32] Y. Lin, R. Huang, N. Santanam, Y. G. Liu, S. Parthasarathy, R. P. Huang, *Cancer Lett.* **2002**, *187*, 17.
- [33] K. Usui-Aoki, K. Shimada, H. Koga, *Mol. Biosyst.* **2007**, *3*, 36.
- [34] K. Kato, M. Toda, H. Iwata, *Biomaterials* **2007**, *28*, 1289.
- [35] D. Nedelkov, K. A. Tubbs, R. W. Nelson, *Electrophoresis* **2006**, *27*, 3671.
- [36] H. Koga, M. Kyo, K. Usui-Aoki, K. Inamori, *Electrophoresis* **2006**, *27*, 3676.
- [37] M. Sanchez-Carbayo, *Clin. Chem.* **2006**, *52*, 1651.
- [38] M. Watanabe, W. Guo, S. Zou, S. Sugiyama, R. Dubner, K. Ren, *Neurosci. Lett.* **2005**, *382*, 128.
- [39] B. B. Haab, *Mol. Cell. Proteomics* **2005**, *4*, 377.
- [40] S. S. Ivanov, A. S. Chung, Z. L. Yuan, Y. J. Guan, K. V. Sachs, J. S. Reichner, Y. E. Chin, *Mol. Cell. Proteomics* **2004**, *3*, 788.
- [41] S. P. Lal, R. I. Christopherson, C. G. dos Remedios, *Drug Discovery Today* **2002**, *7*, S143-S149.
- [42] G. Neuert, C. Albrecht, E. Pamir, H. E. Gaub, *FEBS Lett.* **2006**, *580*, 505.
- [43] M. Grandbois, W. Dettmann, M. Benoit, H. E. Gaub, *J. Histochem. Cytochem.* **2000**, *48*, 719.
- [44] W. A. Linke, A. Grutzner, *Pflugers Arch.* **2008**, *456*, 101.
- [45] W. A. Linke, M. C. Leake, *Phys. Med. Biol.* **2004**, *49*, 3613.
- [46] Y. Oberdörfer, S. Schrot, H. Fuchs, E. Galinski, A. Janshoff, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2003**, *5*, 1876.
- [47] A. Janshoff, M. Neitzert, Y. Oberdörfer, H. Fuchs, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3346; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3212.
- [48] L. A. Cheteglova, J. Waschke, L. Wildling, D. Drenckhahn, P. Hinterdorfer, *Biophys. J.* **2007**, *93*, L11–L13.
- [49] S. Thalhammer, S. Langer, M. R. Speicher, W. M. Heckl, J. B. Geigl, *Chromosome Res.* **2004**, *12*, 337.
- [50] S. Thalhammer, R. W. Stark, S. Muller, J. Wienberg, W. M. Heckl, *J. Struct. Biol.* **1997**, *119*, 232.
- [51] B. Wandelt, P. Cywinski, G. D. Darling, B. R. Stranix, *Biosens. Bioelectron.* **2005**, *20*, 1728.
- [52] J. A. Vickers, M. M. Caulum, C. S. Henry, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 7446.
- [53] T. H. Park, M. L. Shuler, *Biotechnol. Prog.* **2003**, *19*, 243.
- [54] S. Takayama, E. Ostuni, P. LeDuc, K. Naruse, D. E. Ingber, G. M. Whitesides, *Nature* **2001**, *411*, 1016.
- [55] M. B. Gorbet, E. L. Yeo, M. V. Sefton, *J. Biomed. Mater. Res.* **1999**, *44*, 289.
- [56] Z. Du, N. Colls, K. H. Cheng, M. W. Vaughn, L. Gollahon, *Biosens. Bioelectron.* **2006**, *21*, 1991.
- [57] Y. Matsubara, Y. Murakami, M. Kobayashi, Y. Morita, E. Tamiya, *Biosens. Bioelectron.* **2004**, *19*, 741.
- [58] M. Ferrari, *Nat. Rev. Cancer* **2005**, *5*, 161.
- [59] A. Majumdar, *Dis. Markers* **2002**, *18*, 167.
- [60] C. Reichle, K. Sparbier, T. Muller, T. Schnelle, P. Walden, G. Fuhr, *Electrophoresis* **2001**, *22*, 272.
- [61] S. Fiedler, S. G. Shirley, T. Schnelle, G. Fuhr, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 1909.
- [62] M. S. Jaeger, T. Mueller, T. Schnelle, *J. Phys. D* **2007**, *40*, 95.
- [63] S. Yang, A. Undar, J. D. Zahn, *ASAIO J.* **2005**, *51*, 585.
- [64] J. Fu, R. B. Schoch, A. L. Stevens, S. R. Tannenbaum, J. Han, *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 121.
- [65] J. Fritz, M. K. Baller, H. P. Lang, H. Rothuizen, P. Vettiger, E. Meyer, H. Guntherodt, C. Gerber, J. K. Gimzewski, *Science* **2000**, *288*, 316.
- [66] M. Su, S. Li, V. P. Dravid, *Appl. Phys. Lett.* **2003**, *82*, 3562.
- [67] G. Wu, R. H. Datar, K. M. Hansen, T. Thundat, R. J. Cote, A. Majumdar, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 856.
- [68] M. Yue, H. Lin, D. E. Dedrick, S. Satyanarayana, A. Majumdar, A. S. Bedekar, J. W. Jenkins, S. Sundaram, *J. Microelectromech. Syst.* **2004**, *13*, 290.
- [69] Y. Cui, Q. Wei, H. Park, C. M. Lieber, *Science* **2001**, *293*, 1289.
- [70] J. Kong, N. R. Franklin, C. Zhou, M. G. Chapline, S. Peng, K. Cho, H. Dai, *Science* **2000**, *287*, 622.
- [71] A. T. Woolley, C. Guillemette, C. C. Li, D. E. Housman, C. M. Lieber, *Nat. Biotechnol.* **2000**, *18*, 760.
- [72] J. E. Koehne, H. Chen, A. M. Cassell, Q. Ye, J. Han, M. Meyyappan, J. Li, *Clin. Chem.* **2004**, *50*, 1886.
- [73] J. Valenta, R. Juhasz, J. Linnros, *Appl. Phys. Lett.* **2002**, *80*, 1070.
- [74] M. Bruchez, Jr., M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, A. P. Alivisatos, *Science* **1998**, *281*, 2013.
- [75] A. P. Alivisatos, W. Gu, C. Larabell, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2005**, *7*, 55.
- [76] J. Zheng, A. A. Ghazani, Q. Song, S. Mardyani, W. C. Chan, C. Wang, *Lab Hematol.* **2006**, *12*, 94.
- [77] S. C. De Rosa, L. A. Herzenberg, L. A. Herzenberg, M. Roederer, *Nat. Med.* **2001**, *7*, 245.
- [78] X. Gao, Y. Cui, R. M. Levenson, L. W. Chung, S. Nie, *Nat. Biotechnol.* **2004**, *22*, 969.
- [79] X. Gao, L. W. Chung, S. Nie, *Methods Mol. Biol.* **2007**, *374*, 135.
- [80] M. Stroh, J. P. Zimmer, D. G. Duda, T. S. Levchenko, K. S. Cohen, E. B. Brown, D. T. Scadden, V. P. Torchilin, M. G. Bawden, D. Fukumura, R. K. Jain, *Nat. Med.* **2005**, *11*, 678.
- [81] R. K. Jain, M. Stroh, *Nat. Biotechnol.* **2004**, *22*, 959.
- [82] S. S. Rubakhin, J. D. Churchill, W. T. Greenough, J. V. Sweedler, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 7267.

- [83] E. B. Monroe, J. C. Jurchen, B. A. Koszczuk, J. L. Losh, S. S. Rubakhin, J. V. Sweedler, *Anal. Chem.* **2006**, 78, 6826.
- [84] U. Distler, J. Souady, M. Hulsewig, I. Drmic-Hofman, J. Haier, A. Denz, R. Grutzmann, C. Pilarsky, N. Senninger, K. Dreiseewerd, S. Berkenkamp, M. A. Schmidt, J. Peter-Katalinic, J. Muthing, *Mol. Cancer Ther.* **2008**, 7, 2464.
- [85] S. Y. Vakhrushev, M. F. Snel, J. Langridge, J. Peter-Katalinic, *Carbohydr. Res.* **2008**, 343, 2172.
- [86] S. Berkenkamp, F. Kirpekar, F. Hillenkamp, *Science* **1998**, 281, 260.
- [87] F. Hillenkamp, M. Karas, *Methods Enzymol.* **1990**, 193, 280.
- [88] N. Bourdos, F. Kollmer, A. Benninghoven, M. Ross, M. Sieber, H. J. Galla, *Biophys. J.* **2000**, 79, 357.
- [89] P. Cullen, M. Fobker, K. Tegelkamp, K. Meyer, F. Kannenberg, A. Cignarella, A. Benninghoven, G. Assmann, *J. Lipid Res.* **1997**, 38, 401.
- [90] T. L. Colliver, C. L. Brummel, M. L. Pacholski, F. D. Swanek, A. G. Ewing, N. Winograd, *Anal. Chem.* **1997**, 69, 2225.
- [91] H. F. Arlinghaus, C. Kriegeskotte, M. Fartmann, A. Wittig, W. Sauerwein, D. Lipinsky, *Appl. Surf. Sci.* **2006**, 252, 6941.
- [92] H. Nygren, P. Malmberg, C. Kriegeskotte, H. F. Arlinghaus, *FEBS Lett.* **2004**, 566, 291.
- [93] D. Ebeling, H. Holscher, *J. Appl. Phys.* **2007**, 102, 114310.
- [94] A. Schirmeisen, H. Holscher, B. Anczykowski, D. Weiner, M. M. Schafer, H. Fuchs, *Nanotechnology* **2005**, 16, S13-S17.
- [95] A. Schirmeisen, B. Anczykowski, H. Fuchs in *Handbook of Nanotechnology* (Hrsg.: B. Bushan), Springer, Berlin, **2007**, S. 737.
- [96] C. Riethmüller, T. E. Schaffer, F. Kienberger, W. Stracke, H. Oberleithner, *Ultramicroscopy* **2007**, 107, 895.
- [97] V. Shahin, L. Albermann, H. Schillers, L. Kastrup, C. Schafer, Y. Ludwig, C. Stock, H. Oberleithner, *J. Cell. Physiol.* **2005**, 202, 591.
- [98] J. Gorelik, Y. Zhang, A. I. Shevchuk, G. I. Frolenkov, D. Sanchez, M. J. Lab, I. Vodyanoy, C. R. Edwards, D. Klenerman, Y. E. Korchev, *Mol. Cell. Endocrinol.* **2004**, 217, 101.
- [99] C. M. Franz, D. J. Muller, *J. Cell Sci.* **2005**, 118, 5315.
- [100] A. Kueng, C. Kranz, A. Lugstein, E. Bertagnolli, B. Mizaikoff, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 3485; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 3419.
- [101] T. Lange, P. Jungmann, J. Haberle, S. Falk, A. Duebbers, R. Bruns, A. Ebner, P. Hinterdorfer, H. Oberleithner, H. Schillers, *Mol. Membr. Biol.* **2006**, 23, 317.
- [102] R. Imer, M. Stoltz, N. F. de Rooij, U. Aebi, N. F. Friederich, R. Kilger, R. Gottardi, R. Raiteri, D. Wirz, A. U. Daniels, U. Staufer, *Nanomedicine* **2006**, 2, 282.
- [103] C. Gorzelanny, T. Goerge, E. M. Schnaeker, K. Thomas, T. A. Luger, S. W. Schneider, *Exp. Dermatol.* **2006**, 15, 387.
- [104] „Atomic force microscopy enters physiology“: H. Oberleithner, *Pflügers Arch.* **2008**, 456.
- [105] A. G. Onaran, M. Balantekin, W. Lee, W. L. Hughes, B. A. Buchine, R. O. Guldiken, Z. Parlak, C. F. Quate, F. L. Degermek, *Rev. Sci. Instrum.* **2006**, 77, 023501.
- [106] B. Rothenhäusler, W. Knoll, *Nature* **1988**, 332, 615.
- [107] K. Yurugi, S. Kimura, E. Ashihara, H. Tsuji, A. Kawata, Y. Kamitsui, R. Hishida, M. Takegawa, H. Egawa, T. Maekawa, *Transfus. Med.* **2007**, 17, 97.
- [108] C. T. Campbell, G. Kim, *Biomaterials* **2007**, 28, 2380.
- [109] R. Peters, *Small* **2006**, 2, 452.
- [110] T. Endress, M. Lampe, J. A. Briggs, H. G. Krausslich, C. Brauchle, B. Muller, D. C. Lamb, *Eur. Biophys. J.* **2008**, 37, 1291.
- [111] G. Seisenberger, M. U. Ried, T. Endress, H. Buning, M. Hallek, C. Brauchle, *Science* **2001**, 294, 1929.
- [112] P. Marquet, B. Rappaz, P. J. Magistretti, E. Cuche, Y. Emery, T. Colomb, C. Depeursinge, *Opt. Lett.* **2005**, 30, 468.
- [113] C. Depeursinge, T. Colomb, Y. Emery, J. Kuhn, F. Charriere, B. Rappaz, P. Marquet, *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* **2007**, 2007, 6244.
- [114] B. Kemper, G. von Bally, *Appl. Opt.* **2008**, 47, A52–A61.
- [115] B. Kemper, D. Carl, J. Schnakenburger, I. Bredebusch, M. Schafer, W. Domschke, G. von Bally, *J. Biomed. Opt.* **2006**, 11, 34005.
- [116] W. Avenhaus, B. Kemper, S. Knoche, D. Domagk, C. Poremba, G. von Bally, W. Domschke, *Lasers Med. Sci.* **2005**, 19, 223.
- [117] D. Carl, B. Kemper, G. Wernicke, G. von Bally, *Appl. Opt.* **2004**, 43, 6536.
- [118] W. H. Richardson, *J. Opt. Soc. Am.* **1972**, 62, 55.
- [119] S. W. Hell, *Science* **2007**, 316, 1153.
- [120] K. I. Willig, S. O. Rizzoli, V. Westphal, R. Jahn, S. W. Hell, *Nature* **2006**, 440, 935.
- [121] L. Meyer, D. Wildanger, R. Medda, A. Punge, S. O. Rizzoli, G. Donnert, S. W. Hell, *Small* **2008**, 4, 1095.
- [122] M. F. Juette, T. J. Gould, M. D. Lessard, M. J. Mlodzianoski, B. S. Nagpure, B. T. Bennett, S. T. Hess, J. Bewersdorf, *Nat. Meth.* **2008**, 5, 527.
- [123] C. V. Robinson, A. Sali, W. Baumeister, *Nature* **2007**, 450, 973.
- [124] J. O. Ortiz, F. Forster, J. Kurner, A. A. Linaroudis, W. Baumeister, *J. Struct. Biol.* **2006**, 156, 334.
- [125] M. Beck, F. Forster, M. Ecke, J. M. Plitzko, F. Melchior, G. Gerisch, W. Baumeister, O. Medalia, *Science* **2004**, 306, 1387.
- [126] S. K. Arya, A. K. Prusty, S. P. Singh, P. R. Solanki, M. K. Pandey, M. Datta, B. D. Malhotra, *Anal. Biochem.* **2007**, 363, 210.
- [127] S. Kinge, M. Crego-Calama, D. N. Reinhoudt, *ChemPhysChem* **2008**, 9, 20.
- [128] J. M. Nam, C. S. Thaxton, C. A. Mirkin, *Science* **2003**, 301, 1884.
- [129] C. H. Liu, S. Huang, J. Cui, Y. R. Kim, C. T. Farrar, M. A. Moskowitz, B. R. Rosen, P. K. Liu, *FASEB J.* **2007**, 21, 3004.
- [130] H. H. Chang, J. M. Moura, Y. L. Wu, C. Ho, *IEEE Trans. Med. Imaging* **2008**, 27, 1095.
- [131] G. Stoll, M. Bendszus, *Neuroscience* **2008**, im Druck.
- [132] J. Kim, D. I. Kim, S. K. Lee, D. J. Kim, J. E. Lee, S. K. Ahn, *Acta Radiol.* **2008**, 49, 580.
- [133] S. Jander, M. Schroeter, A. Saleh, *Stroke* **2007**, 38, 642.
- [134] F. G. Blankenberg, *J. Nucl. Med.* **2008**, 49 Suppl 2, 81S.
- [135] T. Barrett, M. Brechbiel, M. Bernardo, P. L. Choyke, *J. Magn. Reson. Imaging* **2007**, 26, 235.
- [136] H. E. Daldrup-Link, T. Henning, T. M. Link, *Eur. Radiol.* **2007**, 17, 743.
- [137] D. Maluf, A. Cotterell, B. Clark, T. Stratitz, H. M. Kauffman, R. A. Fisher, *Transplant. Proc.* **2005**, 37, 2195.
- [138] A. M. Morawski, G. A. Lanza, S. A. Wickline, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2005**, 16, 89.
- [139] U. Pison, T. Welte, M. Giersig, D. A. Groneberg, *J. Pharm. Chem.* **2006**, 533, 341.
- [140] K. Kopka, O. Schober, S. Wagner, *Basic Res. Cardiol.* **2008**, 103, 131.
- [141] F. Buther, L. Stegger, M. Dawood, F. Range, M. Schafers, R. Fischbach, T. Wichter, O. Schober, K. P. Schafers, *J. Nucl. Med.* **2007**, 48, 1060.
- [142] L. H. Jamil, K. R. Gill, M. B. Wallace, *Curr. Opin. Gastroenterol.* **2008**, 24, 530.
- [143] P. C. Tumeh, C. G. Radu, A. Ribas, *J. Nucl. Med.* **2008**, 49, 865.
- [144] R. J. Wong, *J. Surg. Oncol.* **2008**, 97, 649.
- [145] K. Bouchelouche, P. Oehr, *Curr. Opin. Oncol.* **2008**, 20, 321.
- [146] V. Sossi, T. J. Ruth, *J. Neural Transm.* **2005**, 112, 319.
- [147] C. H. Su, H. S. Sheu, C. Y. Lin, C. C. Huang, Y. W. Lo, Y. C. Pu, J. C. Weng, D. B. Shieh, J. H. Chen, C. S. Yeh, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 2139.
- [148] Y. M. Huh, Y. W. Jun, H. T. Song, S. Kim, J. S. Choi, J. H. Lee, S. Yoon, K. S. Kim, J. S. Shin, J. S. Suh, J. Cheon, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 12387.

- [149] H. Kobayashi, M. W. Brechbiel, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2005**, 57, 2271.
- [150] P. M. Winter, H. P. Shukla, S. D. Caruthers, M. J. Scott, R. W. Fuhrhop, J. D. Robertson, P. J. Gaffney, S. A. Wickline, G. M. Lanza, *Acad. Radiol.* **2005**, 12 Suppl 1, S9.
- [151] J. Sakamoto, A. Annapragada, P. Decuzzi, M. Ferrari, *Expert Opin. Drug Discovery* **2007**, 4, 359.
- [152] J. W. Park, *Breast Cancer Res.* **2002**, 4, 95.
- [153] B. Romberg, W. E. Hennink, G. Storm, *Pharm. Res.* **2008**, 25, 55.
- [154] A. Gabizon, F. Martin, *Drugs* **1997**, 54 Suppl 4, 15.
- [155] J. M. Harris, R. B. Chess, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2003**, 2, 214.
- [156] W. J. Gradishar, *Expert Opin. Pharmacother.* **2006**, 7, 1041.
- [157] D. Goren, A. T. Horowitz, S. Zalipsky, M. C. Woodle, Y. Yarden, A. Gabizon, *Br. J. Cancer* **1996**, 74, 1749.
- [158] R. Langer, *Nature* **1998**, 392, 5.
- [159] L. Brannon-Peppas, J. O. Blanchette, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2004**, 56, 1649.
- [160] T. M. Allen, *Nat. Rev. Cancer* **2002**, 2, 750.
- [161] J. Kang, M. S. Lee, J. A. Copland, III, B. A. Luxon, D. G. Gorenstein, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 1835.
- [162] G. R. Souza, D. R. Christianson, F. I. Staquicini, M. G. Ozawa, E. Y. Snyder, R. L. Sidman, J. H. Miller, W. Arap, R. Pasqualini, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, 103, 1215.
- [163] R. Duncan, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2003**, 2, 347.
- [164] L. R. Hirsch, R. J. Stafford, J. A. Bankson, S. R. Sershen, B. Rivera, R. E. Price, J. D. Hazle, N. J. Halas, J. L. West, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, 100, 13549.
- [165] L. Douziech-Eyrolles, H. Marchais, K. Herve, E. Munnier, M. Souce, C. Linassier, P. Dubois, I. Chourpa, *Int. J. Nanomed.* **2007**, 2, 541.
- [166] A. Schroeder, Y. Avnir, S. Weisman, Y. Najajreh, A. Gabizon, Y. Talmon, J. Kost, Y. Barenholz, *Langmuir* **2007**, 23, 4019.
- [167] W. L. Monsky, J. B. Kruskal, A. N. Lukyanov, G. D. Girnun, M. Ahmed, G. S. Gazelle, J. C. Huertas, K. E. Stuart, V. P. Torchilin, S. N. Goldberg, *Radiology* **2002**, 224, 823.
- [168] O. C. Farokhzad, J. Cheng, B. A. Teply, I. Sherifi, S. Jon, P. W. Kantoff, J. P. Richie, R. Langer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, 103, 6315.
- [169] O. C. Farokhzad, J. M. Karp, R. Langer, *Expert Opin. Drug Delivery* **2006**, 3, 311.
- [170] A. A. Epenetos, D. Snook, H. Durbin, P. M. Johnson, J. Taylor-Papadimitriou, *Cancer Res.* **1986**, 46, 3183.
- [171] P. Decuzzi, S. Lee, B. Bhushan, M. Ferrari, *Ann. Biomed. Eng.* **2005**, 33, 179.
- [172] P. Decuzzi, F. Gentile, A. Granaldi, A. Curcio, F. Causa, C. Indolfi, P. Netti, M. Ferrari, *Int. J. Nanomed.* **2007**, 2, 689.
- [173] M. Ferrari, *Small* **2008**, 4, 20.
- [174] P. Decuzzi, M. Ferrari, *Biomaterials* **2008**, 29, 377.
- [175] M. Ferrari, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, 3, 131.
- [176] E. Tasciotti, X. Liu, R. Bhavane, K. Plant, A. D. Leonard, B. K. Price, M. M.-C. Cheng, P. Decuzzi, J. M. Tour, F. Robertson, M. Ferrari, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, 3, 151.
- [177] Targeted Delivery for Nanoparticles: Microcontainers could improve cancer treatment by carrying nanoparticles directly to tumors. Technology review: Nanotechnology, 10-4-0008.
- [178] P. Decuzzi, M. Ferrari, *Biomaterials* **2006**, 27, 5307.
- [179] F. Gentile, C. Chiappini, D. Fine, R. Bhavane, M. S. Pelluccio, M. C. Cheng, X. Liu, M. Ferrari, P. Decuzzi, *J. Biomech.* **2008**, 41, 2312.
- [180] V. M. Tysseling-Mattiace, V. Sahni, K. L. Niece, D. Birch, C. Czeisler, M. G. Fehlings, S. I. Stupp, J. A. Kessler, *J. Neurosci.* **2008**, 28, 3814.
- [181] K. Rajangam, H. A. Behanna, M. J. Hui, X. Han, J. F. Hulvat, J. W. Lomasney, S. I. Stupp, *Nano Lett.* **2006**, 6, 2086.
- [182] G. A. Silva, C. Czeisler, K. L. Niece, E. Beniash, D. A. Harrington, J. A. Kessler, S. I. Stupp, *Science* **2004**, 303, 1352.
- [183] L. M. Coussens, Z. Werb, *Nature* **2002**, 420, 860.
- [184] D. Sarkar, P. B. Fisher, *Cancer Lett.* **2006**, 236, 13.
- [185] S. H. Itzkowitz, X. Yio, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **2004**, 287, G7.
- [186] „Inflammation is a secret killer: The surprising link between inflammation and asthma, heart attacks, cancer, Alzheimer's and other diseases“: C. Gorman, A. Park, *Time*, 23. Februar 2004.
- [187] K. E. de Visser, A. Eichten, L. M. Coussens, *Nat. Rev. Cancer* **2006**, 6, 24.
- [188] C. A. Janeway, Jr., R. Medzhitov, *Annu. Rev. Immunol.* **2002**, 20, 197.
- [189] C. A. Janeway, Jr., *Microbes Infect.* **2001**, 3, 1167.
- [190] A. K. Abbas, C. A. Janeway, Jr., *Cell* **2000**, 100, 129.
- [191] C. Nathan, *Nature* **2002**, 420, 846.
- [192] P. R. Taylor, L. Martinez-Pomares, M. Stacey, H. H. Lin, G. D. Brown, S. Gordon, *Annu. Rev. Immunol.* **2005**, 23, 901.
- [193] S. Gordon, *Nat. Rev. Immunol.* **2003**, 3, 23.
- [194] S. Gordon, *Cell* **2002**, 111, 927.
- [195] A. Walther, K. Riehemann, V. Gerke, *Mol. Cell* **2000**, 5, 831.
- [196] K. Riehemann, B. Behnke, K. Schulze-Osthoff, *FEBS Lett.* **1999**, 442, 89.
- [197] K. Schulze-Osthoff, D. Ferrari, K. Riehemann, S. Wesselborg, *Immunobiology* **1997**, 198, 35.
- [198] D. F. Emerich, C. G. Thanos, *Biomol. Eng.* **2006**, 23, 171.
- [199] O. C. Farokhzad, R. Langer, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2006**, 58, 1456.
- [200] V. P. Torchilin, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2006**, 58, 1532.
- [201] G. Blume, G. Cevc, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **1990**, 1029, 91.
- [202] V. P. Torchilin, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, 4, 145.
- [203] V. Wagner, A. Dullaart, A. K. Bock, A. Zweck, *Nat. Biotechnol.* **2006**, 24, 1211.
- [204] E. A. Forssen, Z. A. Tokes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1979**, 91, 1295.
- [205] S. A. Abraham, D. N. Waterhouse, L. D. Mayer, P. R. Cullis, T. D. Madden, M. B. Bally, *Methods Enzymol.* **2005**, 391, 71.
- [206] G. Berry, M. Billingham, E. Alderman, P. Richardson, F. Torti, B. Lum, A. Patek, F. J. Martin, *Ann. Oncol.* **1998**, 9, 711.
- [207] T. Safra, F. Muggia, S. Jeffers, D. D. Tsao-Wei, S. Groshen, O. Lyass, R. Henderson, G. Berry, A. Gabizon, *Ann. Oncol.* **2000**, 11, 1029.
- [208] R. K. Jain, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, 46, 149.
- [209] H. Maeda, J. Wu, T. Sawa, Y. Matsumura, K. Hori, *J. Controlled Release* **2000**, 65, 271.
- [210] S. K. Hobbs, W. L. Monsky, F. Yuan, W. G. Roberts, L. Griffith, V. P. Torchilin, R. K. Jain, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, 95, 4607.
- [211] H. Song, J. Zhang, Z. Han, X. Zhang, Z. Li, L. Zhang, M. Fu, C. Lin, J. Ma, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2006**, 57, 591.
- [212] J. H. Senior, *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* **1987**, 3, 123.
- [213] R. M. Schiffelers, I. A. Bakker-Woudenberg, S. V. Snijders, G. Storm, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **1999**, 1421, 329.
- [214] P. Laverman, M. G. Carstens, O. C. Boerman, E. T. Dams, W. J. Oyen, N. van Rooijen, F. H. Corstens, G. Storm, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, 298, 607.
- [215] G. J. Charrois, T. M. Allen, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2003**, 306, 1058.
- [216] T. Ishida, K. Atobe, X. Wang, H. Kiwada, *J. Controlled Release* **2006**, 115, 251.
- [217] E. T. Dams, P. Laverman, W. J. Oyen, G. Storm, G. L. Scherphof, J. W. van Der Meer, F. H. Corstens, O. C. Boerman, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2000**, 292, 1071.
- [218] B. Gupta, V. P. Torchilin, *Cancer Immunol. Immunother.* **2007**, 56, 1215.
- [219] L. Z. Iakoubov, V. P. Torchilin, *Cancer Detect. Prev.* **1998**, 22, 470.

- [220] T. M. Allen, D. R. Mumbengegwi, G. J. Charrois, *Clin. Cancer Res.* **2005**, *11*, 3567.
- [221] L. D. Mayer, L. C. Tai, D. S. Ko, D. Masin, R. S. Ginsberg, P. R. Cullis, M. B. Bally, *Cancer Res.* **1989**, *49*, 5922.
- [222] A. M. Ponce, B. L. Viglianti, D. Yu, P. S. Yarmolenko, C. R. Michelich, J. Woo, M. B. Bally, M. W. Dewhirst, *J. Natl. Cancer Inst.* **2007**, *99*, 53.
- [223] J. Adler-Moore, R. T. Proffitt, *J. Antimicrob. Chemother.* **2002**, *49 Suppl 1*, 21.
- [224] A. Garcia, J. P. Adler-Moore, R. T. Proffitt, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**, *44*, 2327.
- [225] V. R. Sinha, A. Trehan, *J. Controlled Release* **2003**, *90*, 261.
- [226] G. Kaul, M. Amiji, *Pharm. Res.* **2005**, *22*, 951.
- [227] N. K. Ibrahim, N. Desai, S. Legha, P. Soon-Shiong, R. L. Theriault, E. Rivera, B. Esmaeli, S. E. Ring, A. Bedikian, G. N. Hortobagyi, J. A. Ellerhorst, *Clin. Cancer Res.* **2002**, *8*, 1038.
- [228] N. Desai, V. Trieu, Z. Yao, L. Louie, S. Ci, A. Yang, C. Tao, T. De, B. Beals, D. Dykes, P. Noker, R. Yao, E. Labao, M. Hawkins, P. Soon-Shiong, *Clin. Cancer Res.* **2006**, *12*, 1317.
- [229] H. Gelderblom, J. Verweij, K. Nooter, A. Sparreboom, *Eur. J. Cancer* **2001**, *37*, 1590.
- [230] E. K. Rowinsky, R. C. Donehower, *N. Engl. J. Med.* **1995**, *332*, 1004.
- [231] L. van Zuylen, M. O. Karlsson, J. Verweij, E. Brouwer, P. de Bruijn, K. Nooter, G. Stoter, A. Sparreboom, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2001**, *47*, 309.
- [232] J. Lee Villano, D. Mehta, L. Radhakrishnan, *Invest. New Drugs* **2006**, *24*, 455.
- [233] R. Duncan, *Nat. Rev. Cancer* **2006**, *6*, 688.
- [234] M. J. Vicent, *AAPS J.* **2007**, *9*, E200–E207.
- [235] D. J. Stickler, *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2000**, *13*, 389.
- [236] R. Warriner, R. Burrell, *Adv. Skin Wound Care* **2005**, *18 Suppl 1*, 2.
- [237] J. Stephen-Haynes, L. Toner, *Br. J. Community Nurs.* **2007**, *12*, (3) Suppl, S6.
- [238] P. Martin, S. J. Leibovich, *Trends Cell Biol.* **2005**, *15*, 599.
- [239] R. G. Sibbald, A. C. Browne, P. Coutts, D. Queen, *Ostomy Wound. Manage.* **2001**, *47*, 38.
- [240] R. Strohal, M. Schelling, M. Takacs, W. Jurecka, U. Gruber, F. Offner, *J. Hosp. Infect.* **2005**, *60*, 226.
- [241] D. J. Leaper, *Int. Wound. J.* **2006**, *3*, 282.
- [242] S. L. Percival, P. G. Bowler, D. Russell, *J. Hosp. Infect.* **2005**, *60*, 1.
- [243] J. B. Wright, K. Lam, A. G. Buret, M. E. Olson, R. E. Burrell, *Wound Repair Regen.* **2002**, *10*, 141.
- [244] A. K. Gupta, M. Gupta, *Biomaterials* **2005**, *26*, 3995.
- [245] D. L. Huber, *Small* **2005**, *1*, 482.
- [246] A. Jordan, R. Scholz, K. Maier-Hauff, M. Johannsen, P. Wust, J. Nadobny, H. Schirra, H. Schmidt, S. Deger, S. Loening, W. Lanksch, R. Felix, *J. Magn. Magn. Mater.* **2001**, *225*, 118.
- [247] P. Fortina, L. J. Kricka, D. J. Graves, J. Park, T. Hyslop, F. Tam, N. Halas, S. Surrey, S. A. Waldman, *Trends Biotechnol.* **2007**, *25*, 145.
- [248] A. Ito, F. Matsuoka, H. Honda, T. Kobayashi, *Cancer Immunol. Immunother.* **2004**, *53*, 26.
- [249] M. Johannsen, U. Gneveckow, K. Taymoorian, B. Thiesen, N. Waldfner, R. Scholz, K. Jung, A. Jordan, P. Wust, S. A. Loening, *Int. J. Hyperthermia* **2007**, *23*, 315.
- [250] B. W. Pogue, C. Willscher, T. O. McBride, U. L. Osterberg, K. D. Paulsen, *Med. Phys.* **2000**, *27*, 2693.
- [251] J. R. Kreuter, *Int. Congr. Ser.* **2005**, *1277*, 85.
- [252] A. Yesim, M. Yemisci, K. Andrieux, R. N. Gursoy, M. J. Alonso, E. Fernandez-Megia, R. Novoa-Carballal, E. Quinoa, R. Riguera, M. F. Sargon, H. H. Celik, A. S. Demir, A. A. Hincal, T. Dalkara, Y. Capan, P. Couvreur, *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 1503.
- [253] L. Canham, *Proceedings of the 1st Annual International Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology*, **2000**, 109.
- [254] K. E. Orosz, S. Gupta, M. Hassink, M. Abdel-Rahman, L. Moldovan, F. H. Davidorf, N. I. Moldovan, *Mol. Vision* **2004**, *10*, 555.
- [255] B. W. Barry, *Nat. Biotechnol.* **2004**, *22*, 165.
- [256] D. W. Lee, J. Flint, T. Morey, D. Dennis, R. Partch, R. Baney, *J. Pharm. Sci.* **2005**, *94*, 373.
- [257] E. M. Renahan, F. K. Enneking, M. Varshney, R. Partch, D. M. Dennis, T. E. Morey, *Reg. Anesth. Pain Med.* **2005**, *30*, 380.
- [258] F. Zeifang, M. Grunze, G. Delling, H. Lorenz, C. Heisel, G. Tosounidis, D. Sabo, H. G. Simank, J. H. Holstein, *Med. Sci. Monit.* **2008**, *14*, BR35–BR40.
- [259] U. Schmelmer, A. Paul, A. Kuller, M. Steenackers, A. Ulman, M. Grunze, A. Golzhauser, R. Jordan, *Small* **2007**, *3*, 459.
- [260] A. Welle, M. Grunze, D. Tur, *J. Colloid Interface Sci.* **1998**, *197*, 263.
- [261] J. P. Spatz, B. Geiger, *Methods Cell Biol.* **2007**, *83*, 89.
- [262] C. Mohrdieck, F. Dalmas, E. Arzt, R. Tharmann, M. M. Claessens, A. R. Bausch, A. Roth, E. Sackmann, C. H. Schmitz, J. Curtis, W. Roos, S. Schulz, K. Uhrig, J. P. Spatz, *Small* **2007**, *3*, 1015.
- [263] T. Steinberg, S. Schulz, J. P. Spatz, N. Grabe, E. Mussig, A. Kohl, G. Komposch, P. Tomakidi, *Nano. Lett.* **2007**, *7*, 287.
- [264] Y. T. Cheng, D. E. Rodak, *Appl. Phys. Lett.* **2005**, *86*, 144101.
- [265] A. Marmur, *Langmuir* **2004**, *20*, 3517.
- [266] S. V. Graeter, J. Huang, N. Perschmann, M. Lopez-Garcia, H. Kessler, J. Ding, J. P. Spatz, *Nano Lett.* **2007**, *7*, 1413.
- [267] T. Sun, D. Han, K. Riehemann, L. Chi, H. Fuchs, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4853.
- [268] M. Sato, A. Aslani, M. A. Sambito, N. M. Kalkhoran, E. B. Slamovich, T. J. Webster, *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2008**, *84*, 265.
- [269] K. C. Popat, L. Leoni, C. A. Grimes, T. A. Desai, *Biomaterials* **2007**, *28*, 3188.
- [270] H. Li, K. A. Khor, V. Chow, P. Cheang, *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2007**, *82*, 296.
- [271] P. Bajaj, D. Akin, A. Gupta, D. Sherman, B. Shi, O. Auciello, R. Bashir, *Biomed. Microdevices* **2007**, *9*, 787.
- [272] A. S. Zuruzi, M. S. Ward, N. C. MacDonald, *Nanotechnology* **2005**, *16*, 1029.
- [273] D. M. Cao, T. Wang, B. Feng, W. J. Meng, K. W. Kelly, *Thin Solid Films* **2001**, *398*, 553.
- [274] M. Powell, M. Griffin, S. Tai, *Environmental Management* **2008**, *42*(3), 426.
- [275] D. G. Rickerby, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2007**, *7*, 4618.
- [276] J. S. Tsuji, A. D. Maynard, P. C. Howard, J. T. James, C. w. Lam, D. B. Warheit, A. B. Santamaria, *Toxicol. Sci.* **2006**, *89*, 42.
- [277] V. L. Colvin, *Nat. Biotechnol.* **2003**, *21*, 1166.
- [278] H. Wang, N. Eliaz, Z. Xiang, H. P. Hsu, M. Spector, L. W. Hobbs, *Biomaterials* **2006**, *27*, 4192.
- [279] T. Furuzono, M. Masuda, M. Okada, S. Yasuda, H. Kadono, R. Tanaka, K. Miyatake, *ASAIO J.* **2006**, *52*, 315.
- [280] F. D. Gilliland, Y. F. Li, A. Saxon, D. Diaz-Sanchez, *Lancet* **2004**, *363*, 119.
- [281] A. Nel, T. Xia, L. Madler, N. Li, *Science* **2006**, *311*, 622.
- [282] A. A. Shvedova, E. R. Kisin, R. Mercer, A. R. Murray, V. J. Johnson, A. I. Potapovich, Y. Y. Tyurina, O. Gorelik, S. Areppalli, D. Schwegler-Berry, A. F. Hubbs, J. Antonini, D. E. Evans, B. K. Ku, D. Ramsey, A. Maynard, V. E. Kagan, V. Castranova, P. Baron, *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **2005**, *289*, L698–L708.
- [283] J. B. Mangum, E. A. Turpin, A. Antao-Menezes, M. F. Cesta, E. Bermudez, J. C. Bonner, *Part. Fibre Toxicol.* **2006**, *3*, 15.

- [284] C. A. Poland, R. Duffin, I. Kinloch, A. Maynard, W. A. H. Wallace, A. Seaton, V. Stone, S. Brown, W. MacNee, K. Donaldson, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, im Druck.
- [285] K. Pulskamp, S. Diabaté, H. F. Krug, *Toxicol. Lett.* **2007**, *168*, 58.
- [286] N. Lewinski, V. Colvin, R. Drezek, *Small* **2008**, *4*, 26.
- [287] A. Nemmar, H. Vanbilloen, M. F. Hoylaerts, P. H. Hoet, A. Verbruggen, B. Nemery, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2001**, *164*, 1665.
- [288] M. Chorny, I. Fishbein, I. S. Alferiev, O. Nyanguile, R. Gaster, R. J. Levy, *Mol. Ther.* **2006**, *14*, 382.
- [289] D. M. Brown, V. Stone, P. Findlay, W. MacNee, K. Donaldson, *Occup. Environ. Med.* **2000**, *57*, 685.
- [290] V. Stone, M. Tuinman, J. E. Vamvakopoulos, J. Shaw, D. Brown, S. Petterson, S. P. Faux, P. Borm, W. MacNee, F. Michaelangeli, K. Donaldson, *Eur. Respir. J.* **2000**, *15*, 297.
- [291] P. Jani, G. W. Halbert, J. Langridge, A. T. Florence, *J. Pharm. Pharmacol.* **1990**, *42*, 821.
- [292] Y. Zhang, Z. Hu, M. Ye, Y. Pan, J. Chen, Y. Luo, Y. Zhang, L. He, J. Wang, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2007**, *66*, 268.
- [293] M. E. Akerman, W. C. Chan, P. Laakkonen, S. N. Bhatia, E. Ruoslahti, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 12617.
- [294] S. Chong, K. S. Lee, M. J. Chung, J. Han, O. J. Kwon, T. S. Kim, *Radiographics* **2006**, *26*, 59.
- [295] A. M. Gatti, F. Rivasi, *Biomaterials* **2002**, *23*, 2381.
- [296] A. M. Gatti, *Biomaterials* **2004**, *25*, 385.
- [297] P. H. Hoet, I. Bruske-Hohlfeld, O. V. Salata, *J. Nanobiotechnol.* **2004**, *2*, 12.
- [298] H. Benyamin, A. Shulman-Peleg, H. J. Wolfson, B. Belgorodsky, L. Fadeev, M. Gozin, *Bioconjugate Chem.* **2006**, *17*, 378.
- [299] E. Oberdorster, *Environ. Health Perspect.* **2004**, *112*, 1058.
- [300] a) J. Wegener, D. Abrams, W. Willenbrink, H. J. Galla, A. Janshoff, *Biotechniques* **2004**, *37*, 590, b) J. Wegener, D. Abrams, W. Willenbrink, H. J. Galla, A. Janshoff, *Biotechniques* **2004**, *37*, 592, c) J. Wegener, D. Abrams, W. Willenbrink, H. J. Galla, A. Janshoff, *Biotechniques* **2004**, *37*, 597.
- [301] J. Wegener, A. Hakvoort, H. J. Galla, *Brain Res.* **2000**, *853*, 115.
- [302] D. Hoheisel, T. Nitz, H. Franke, J. Wegener, A. Hakvoort, T. Tillig, H. J. Galla, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, *244*, 312.
- [303] J. Wegener, M. Sieber, H. J. Galla, *J. Biochem. Biophys. Methods* **1996**, *32*, 151.
- [304] K. Riehemann et al., unveröffentlichte Ergebnisse.
- [305] S. W. Schneider, unveröffentlichte Ergebnisse.