



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Medizinische Fakultät Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Radioprotektion durch multidrug resistance 1 (MDR1)  
Überexpression von Lymphoblastoiden Zellen und Endothelzellen**

Autor: Christina Ganasinski  
Institut / Klinik: Klinik für Strahlentherapie und Radioonkologie  
Doktorvater: Prof. Dr. F. Wenz

Der Erfolg der Bestrahlung in der Tumorthherapie wird durch Nebenwirkungen in u.a. hämatopoetischen Stammzellen und Endothelzellen limitiert. Ein Schutz des gesunden Normalgewebes durch Genterapie würde das therapeutische Fenster der Strahlentherapie erweitern. Ein viel versprechendes Gen hierfür ist das „Multidrug Resistance 1“ (MDR1) Gen.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, durch welchen Mechanismus die bekannte radioprotektive Wirkung durch MDR1 in TK6-Zellen ausgeübt wird und ob MDR1 in HDMEC-Zellen radioprotektiv wirkt.

Bezüglich des Mechanismus der Radioprotektion durch MDR1, wurde der Einfluss von ionisierender Strahlung auf den PI3K/AKT-Überlebenssignalweg sowie auf den mitochondrialen Apoptosesignalweg mittels Western Blot analysiert.

Die Hemmung mit Wortmannin, irreversibler Inhibitor aller PI3-Kinasen, zeigte zunächst, dass P-AKT in TK6-wt, TK6-MDR1 und TK6-E6 vorhanden war und wirksam durch Hemmung der PI3-Kinasen vermindert wurde. Es waren keine Unterschiede in der Hemmung in TK6-wt, TK6-MDR1 und TK6-E6 festzustellen.

Bestrahlung zeigte keinen Unterschied in der Expression und Phosphorylierung von AKT in TK6-wt und TK6-MDR1; somit kann der PI3K/AKT-Überlebenssignalweg nicht als Antwort auf strahleninduzierte Apoptose in TK6-Zellen gesehen werden.

In TK6-wt und TK6-MDR1 wurde 3 h nach Radiatio eine ähnliche und signifikante verminderte Phosphorylierung von BCL-2 (Mitglied des mitochondrialen Apoptosesignalwegs) zum ersten Mal beobachtet. Ein strahleninduzierter Unterschied in der Expression von BCL-2 war hingegen nicht zu beobachten. Somit hat nach ionisierender Bestrahlung eher der Grad der Phosphorylierung von BCL-2 als eine Änderung seiner Expression einen Einfluss auf den mitochondrialen Apoptosesignalweg. MDR1 wirkt vermutlich weiter abwärts im mitochondrialen Apoptosesignalweg radioprotektiv. Der in der Fragestellung vermutete Einfluss von MDR1 nach Bestrahlung auf den PI3K/AKT-Signalweg und den mitochondrialen Apoptosesignalweg konnte somit nicht gezeigt werden.

HDMEC wurden als Modellsystem für Studien der radioprotektiven Wirkung von MDR1 *in vitro* etabliert. Bezüglich des Zellkulturverhaltens konnten folgende Bedingungen herausgearbeitet werden, die anschließend zur Analyse der Radioprotektion verwendet wurden: Proliferationsassays wurden unter dünnen Massenkulturbedingungen in unbeschichteten Zellkulturflaschen mit Serum haltigem Medium durchgeführt. Das klonogene Überleben wurde bei einer Zellzahl von 105 Zellen pro cm<sup>2</sup> in Kollagen Typ-1 selbst beschichteten Zellkulturplatten untersucht.

Die Radioprotektion durch MDR1 wurde mittels Proliferations- und Koloniebildungstests analysiert. HDMEC zeigten nach Bestrahlung mit 4 Gy eine signifikante Proliferationshemmung. Eine Radioprotektion durch MDR1 konnte weder im Proliferations- noch im Koloniebildungstest gezeigt werden. Um einen Schutz von HDMEC zu erreichen, sollten andere radioprotektive Mechanismen untersucht werden.

Mit dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass der radioprotektive Effekt von MDR1-Überexpression in lymphoblastoiden Zellen nicht durch die untersuchten Abschnitte der Signalkaskaden erzeugt wurde. Für HDMEC konnten die optimalen Kulturbedingungen etabliert werden, allerdings erzeugte der MDR1 Gentransfer keinen radioresistenten Phänotyp.