

Robert Großelfinger
Dr.med.

Untersuchung zur Chemoseparation von Tumorstammzellen autochthoner Rattenleukämien mit ET-18-OCH₃ und zum stammzellprotektiven Effekt von Testosteron

Geboren am 07.12.1960 in Obergünzburg
Reifeprüfung 1980 in Hohenschwangau
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1982 bis WS 1988
Physikum am 29.03.1984 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 01.12.1988 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)
Doktorvater: Herr Prof. Dr.med. W.J. Zeller

Schwerpunkt der Arbeit waren die vergleichende Untersuchung der stammzelltoxischen Wirkung von ET-18-OCH₃ auf gesunde und leukämische Knochenmarkstammzellen einerseits und im Vergleich in-vitro-Inkubation zu in-vivo-Inkubation andererseits. Hierfür wurde ein autochthones Leukämiemodell der Ratte gewählt.

Die Leukämien wurden mit ENH in BD-II-Ratten induziert und anschließend im Tierversuch und im Stammzell-Assay untersucht. Von der Inkubation der Leukämien über den vergleichenden CFU-C- und CFU-L-Assay bis hin zum in-vivo-Experiment wurde die gleiche Tierspezies verwendet. Damit sind die Ergebnisse aus in-vitro und in-vivo-Experimenten an normalen und leukämischen Zellen gut vergleichbar.

Die aus Ratten gewonnenen Leukämiestammzellen wurde mit monoklonalen Antikörpern markiert und in die Subtypen T-Zell-, B-Zell- und Ia-positive Leukämien differenziert. Nach 10- /21-tägiger Inkubation im Soft-Agar wurden die gesunden/leukämischen Stammzellen anhand ihrer Koloniebildung mit einem hierfür entwickelten und standardisiertem Verfahren mit einem Imageanalyser elektronenoptisch ausgewertet.

Bei diesen Untersuchungen erwies sich für ET-18-OCH₃ eine in-vitro-Inkubationszeit von > 12 Std. als erforderlich, damit ET-18-OCH₃ seine volle Wirksamkeit entfalten kann.

Im Vergleich der CFU-C- und CFU-L-Assays überlebten die leukämischen Stammzellen bis zu viermal häufiger als die normalen. Dieser Effekt hat sein Optimum bei 74,0 µM ET-18-OCH₃ und sinkt mit zunehmender Konzentration auf ein zweifach höhere Eliminierung gesunder Stammzellen bei 148,0 µM.

Durch eine Koinkubation mit Testosteron während des in-vitro-Purgings konnte eine Protektion der normalen Stammzellen erreicht werden, ohne die antileukämische Zytotoxizität von ET-18-OCH₃ abzuschwächen. Bei Zugabe von 22 nM Testosteron

und 74 μM ET-18-OCH₃ werden ungefähr gleich viele normale wie leukämische Stammzellen gehemmt, ohne Testosteronzugabe überleben die leukämischen Stammzellen fast viermal häufiger.

Der Vergleich der Ergebnisse aus dem Tierexperiment mit den Daten aus den CFU-C- und CFU-L-Assays unterstreicht, daß ET-18-OCH₃ offenbar nicht alleine durch seine zelltoxischen Effekte kurativ wirksam sein kann. Effekte wie die diskutierte Erhöhung der Immunogenität der Leukämiezellen scheinen eine größere Bedeutung, als bisher angenommen, zu haben.