

Marcel Simon
Dr. med.

Charakterisierung und Modulation echter und vorgetäuschter Zytostatikaresistenz in vitro

Geboren am 28.01.1977 in Mannheim
Staatsexamen am 30.10.2003 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: DKFZ
Doktorvater: Professor Dr. med. Christof Granzow

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Modulation der Chemoresistenz menschlicher Tumorzellen unter Bedingungen *in vitro*. Die hierfür benötigten Kulturmedien enthalten fetales Rinderserum. Es ist bekannt, dass unterschiedliche Serumchargen häufig Inkonsistenz der Versuchsergebnisse bewirken. Deshalb wurde neben konventionellem Serum auch ein neuartiges Serumprodukt, FCS Gold, in die Experimente einbezogen. Mit FCS Gold sollen nach Herstellerangaben die üblichen Abweichungen zwischen den einzelnen Serumchargen entfallen.

Bei Verwendung von FCS Gold konnte mit den Folsäureantagonisten Methotrexat und LY231514 weder bei KB- noch bei CCRF-CEM-Zellen eine Wachstumshemmung erzielt werden. Hingegen ergaben Versuche mit konventionellem Serum sowie mit dialysiertem FCS Gold Wirkungsprofile, die mit Resultaten anderer Autoren vergleichbar waren. Unter Verwendung von konventionellem Serum wurden diejenigen Hypoxanthin- und Thymidin-Konzentrationen ermittelt, die bei CCRF-CEM-Zellen die Wirkung von Methotrexat aufheben. Gehaltsanalysen ergaben, dass mit 10 Vol.-% FCS Gold bereitete Kulturmedien Hypoxanthin und Thymidin in Konzentrationen enthalten, in deren Gegenwart Methotrexat unwirksam ist. Dies erklärt die beschriebenen, falsch-negativen Resultate. Weitere Versuche zeigten zudem, dass individuelle FCS Gold-Chargen bezüglich ihrer proliferationsfördernden Wirkung bei CCRF-CEM-Zellen stark differierten. Wegen dieser Eigenschaften wurde FCS Gold von den weiteren Versuchen ausgeschlossen.

Die durch Zytostatikaexposition *in vitro* multidrogenresistent gemachten Varianten KBC5-8 und H69AR stammen von chemosensiblen KB- bzw. H69-Zellen ab und wurden in Experimenten zur Resistenzmodulation eingesetzt. KBC5-8-Zellen überexprimieren P-Glykoprotein, H69AR-Zellen hingegen MRP1. Napavin, ein photoaktivierbares Derivat von Vinblastin, sowie Verapamil dienten als Modulatoren. Die Resistenz von KBC5-8-Zellen gegen Napavin wurde durch Photoaktivierung der Substanz zwar verringert, aber nicht behoben. Wurde zusätzlich Verapamil (2 μ M) eingesetzt, verloren die Tumorzellen durch eine elfminütige Inkubation und anschließende einminütige Laserbelichtung ihre Resistenz vollständig. Dieses bereits bekannte Resultat wurde mit einer länger als 10 Jahre gelagerten Napavinpräparation reproduziert, was die Langzeitstabilität dieses lichtempfindlichen Zytostatikums belegt. Nach gleichem Protokoll bei H69AR-Zellen erstmals vorgenommene Experimente ergaben eine geringfügige Minderung ihrer Napavinresistenz durch Photoaktivierung. Zusätzlich eingesetztes Verapamil führte weder mit noch ohne Photoaktivierung von Napavin zu einer Wirkungssteigerung. Dies schließt nicht aus, dass Photoaktivierung von Napavin die durch MRP1 bedingte Chemoresistenz von menschlichen Tumorzellen bei Verwendung geeigneter Sensitizer ebenso aufzuheben vermag wie die durch P-Glykoprotein bedingte Resistenz.