

Ralph Herbert Dollner

Dr. med

Chaotropismus und Prävention flavinvermittelter Photoreaktionen bei Zellkultur-experimenten

Geboren am 29. 12. 1968 in Mannheim

Reifeprüfung am 13. 06. 1988 in Viernheim

Studiengang der Fachrichtung Medizin von WS 1990/91 bis SS 1997

Physikum am 26. 03. 1993 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg

Staatsexamen am 27. 05. 1997 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

Doktorvater: Prof. Dr. med. C. Granzow

Flavine sind essentielle Komponenten der Flavoproteine. Tierische Zellen sind diesbezüglich heterotroph und müssen deshalb bei Kultivierung in vitro Flavine zugeführt bekommen. Unter Zellkulturbedingungen wird infolge der damit verbundenen Lichtexposition die in vivo meist weniger gravierende Photoreaktivität der Flavine bedeutsam. Flavinvermittelte Photoreaktionen sind seit langem bekannt und generieren u. a. Sauerstoffradikale. Lichtexponierte, flavinhaltige Zellkulturmedien wirken infolgedessen zytotoxisch und mutagen. Außerdem führen sie zur photooxidativen Degradierung von Zytostatika. All dies beeinträchtigt generell die Brauchbarkeit von Untersuchungsergebnissen an Zellkulturen in hohem Maße.

Gängige Rezepturen für den chemisch definierten Anteil von Zellkulturmedien enthalten infolge willkürlicher Festsetzungen vom Zwanzig- bis zum weit über Tausendfachen der von Säugerzellen tatsächlich benötigten Riboflavinkonzentration. Im allgemeinen werden solche Medien durch tierisches Serum komplettiert. Die Seren sind relativ reich an Flavinen. Es erschien deshalb denkbar, daß die aus dem Serum stammenden Mengen zur Zellkultivierung ausreichen und auf Flavine als Bestandteil der Kulturmedien in übrigen völlig verzichtet werden kann.

In der vorliegenden Arbeit wurde dieses Konzept an Suspensionskulturen von chemosensiblen und chemoresistenten Ehrlich-Lettré-Asciteszellen der Maus systematisch untersucht. Die Lichtexposition der Medien wurde dabei auf einen sichtbaren Anteil des Spektrums beschränkt. Es wurde geprüft, wie sich die Abwesenheit von Flavinen im chemisch definierten Medienanteil auf die Langzeitkultivierbarkeit, den Zellzyklus, die Klonierbarkeit und die Vinblastinempfindlichkeit der Tumorzellen auswirkt. Weitere Untersuchungen galten der Frage, ob die chemosensibilisierende Wirkung von Verapamil durch flavinvermittelte Photoreaktionen modifiziert wird.

Es zeigte sich, daß Proliferationskinetik und Zellzyklus beider Asciteszellstämme in Kulturmedien, die nur Flavine aus dem verwendeten Pferdeserum enthielten, während nahezu einjähriger Beobachtung völlig unbeeinträchtigt waren. Riboflavinhaltige Medien hingegen zeigten die bekannte, lichtinduzierte Zytotoxizität. Effizienz und Reproduzierbarkeit von Experimenten zur Zellklonierung, Chemosensibilitätstestung und Chemosensibilisierung sind in flavinfreien Medien

weit überlegen. Verapamil wird nur in flavinhaltigen, nicht jedoch in flavinfreien Medien photosensibilisiert.

Die Untersuchungen erlauben die Schlußfolgerung, das die destruktiven Konsequenzen flavinvermittelter Photoreaktionen in Zellkulturen durch den Einsatz flavinfreier Medien verhindert werden können. Dadurch werden die interessierenden zellulären Signale identifizierbar, die sonst im photochemischen Rauschen untergehen.