



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Etablierung und Charakterisierung cisplatinresistenter Sublinien
der Blasenkarzinomzelllinie RT112**

Autor: Claudia Marx
Einrichtung: Urologische Klinik
Doktorvater: Priv.-Doz. K.-U. Köhrmann

Zur Erforschung der Ursachen der sekundären Cisplatinresistenz werden resistente Zelllinien etabliert und charakterisiert. Durch kontinuierliche Cisplatinexposition konnten wir die Zelllinien CP1, CP1.5, CP2, CP2.5 u. CP3 selektionieren. Aus der Zelllinie CP1.5 haben wir durch limitierte Verdünnung zwei monoklonale Zelllinien K1 und K2 erhalten. Die Zelllinie CP1 ist 2-fach, CP1.5 14-fach, CP2 8.6-fach, CP2.5 14-fach und CP3 15-fach resistenter als die Elternzelllinie RT112. Außerdem wurden Zytotoxizitätstests mit Methotrexat, Vinblastin, Doxorubicin und Cisplatin durchgeführt, um mögliche Kreuzresistenzen der cisplatinresistenten Zellen aufzuzeigen. Dabei zeigten die selektionierten Zellen eine ausgeprägte Methotrexatkreuz-resistenz. Die Zelllinien CP3 und K2 sind 10 mal methotrexat-resistenter als die Elternzelllinie, und die monoklonale Zelllinie K1 35-fach resistenter als die Elternzelllinie RT112. Es gelingt nicht mit Verapamil, einem Hemmstoff von P-170-Glykoprotein und mit BSO, einem Hemmstoff der GSH-Synthese, die Cisplatinresistenz zu durchbrechen. Der Versuch des immunhistochemischen Nachweises von P-170-Glykoprotein in cisplatinresistenten Zellen mit dem Mausantikörper C219 fällt ebenfalls negativ aus. Die cisplatinresistenten Zellen verlieren auch nach 5 wöchigem Wachstum ohne Cisplatinexposition nicht ihre Resistenz.

Als möglicher Cisplatinresistenzmechanismus wird Metallothionein diskutiert. Mit Hilfe der Kapillaronenelektrophorese bestimmten wir den MT-Gehalt in den Zellen. Inkubationsversuche mit Cadmium, einem potenten Induktor der MT-Synthese, zeigen, daß der MT-Gehalt in cisplatin-sensiblen Zellen nach 8 stündiger Inkubation auf das 1.8-fache für MT-I und auf das 2.24-fache für MT-II steigt. Cisplatinexposition führt nach 8 Stunden in sensiblen RT112 Zellen zu einem 2.5-fach höheren MT-I- und einem 2.24-fach höheren MT-II-Gehalt. Dies zeigt, daß bereits nach kurzer Cisplatinexposition sich der MT-Gehalt in RT112 Zellen erhöht. Auch die cisplatinresistenten Zellen weisen gesteigerte MT-Spiegel auf. So ist der MT-II-Gehalt von CP2 um das 1.8-fache und der von CP3 um das 2.46-fache im Vergleich zur Elternzelllinie RT112 erhöht. Die Bestimmung des MT-Gehaltes in menschlichen Blasenkarzinomproben zeigt, daß der MT-II-Gehalt in neun von dreizehn Fällen und MT-I in sechs Fällen von dreizehn Proben erhöht ist. Die Proben mit normalem Urothelgewebe weisen in drei von neun Proben einen erhöhten MT-II-Gehalt und in zwei Proben einen erhöhten MT-I-Gehalt auf. Durchschnittlich ist der MT-Gehalt im Blasenkarzinomgewebe 3 mal höher als in normalem Urothelgewebe der Blase. Zusammenfassend zeigt sich, daß Metallothionein einen möglicher Cisplatinresistenzmechanismus ist.