

Till Kroeber
Dr. med.

Cytostatische Wirkung des photoreaktiven Vinblastinderivats Napavin sowie Photosensibilisierung von Vinblastin durch Riboflavin

Geboren am 27.04.1965 in Oldenburg
Reifeprüfung am 07.06.1984 in Laichingen
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1987 bis SS 1995
Physikum am 29.08.1989 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg und London
Praktisches Jahr in Heidelberg und London
Staatsexamen am 03.05.1995 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)
Doktorvater Prof. Dr. med. C. Granzow

Die vorliegende Arbeit beinhaltet in vitro-Untersuchungen. Sie galten einerseits der Wirkung des photoreaktiven Cytostatikums Napavin, andererseits einer bislang unbekanntem, durch sichtbares Licht vermittelten Photosensibilisierung von Vinblastin durch Riboflavin.

Napavin, ein durch Einführung von 4-(2-Aminoethyl)amino-3-nitrophenyl-azid photoaffinitätsmarkiertes Derivat des Cytostatikums Vinblastin, assoziiert sich mit Proteinen. Belichtung mit Wellenlängen um 460 nm führt zur kovalenten Fixierung von Napavin an seinen Zielmolekülen, namentlich Tubulin.

Die Wirkung von Napavin auf Zellen wurde nach 30minütiger Exposition ohne oder mit nachfolgender Photoaktivierung durch einen Argonlaser bei 457 nm untersucht. Testzellen waren Ehrlich-Lette-Asciteszellen der drei Stämme HD34K (chemosensibler Wildtyp), HD33C (Variante mit pharmakologisch induzierter Multidrogenresistenz) sowie SR (Variante mit spontan entstandener Multidrogenresistenz). Die Multidrogenresistenz beider Varianten beruht auf Expression von P-Glycoprotein.

Die 50prozentigen Hemmkonzentrationen (HK50-Werte) betragen im Mittel bei HD34K-, HD33C- beziehungsweise SR-Asciteszellen für Vinblastin 2, 110 beziehungsweise 25 μM , für Napavin ohne Photoaktivierung 3, 400 beziehungsweise 20 μM und für Napavin mit Photoaktivierung 0,055, 1,3 beziehungsweise 0,6 μM . Der Faktor, um den die Photoaktivierung die cytostatische Wirkung von Napavin steigert, ist demnach bei chemosensiblen Zellen >50 , bei Zellen mit induzierter Resistenz >300 und bei Zellen mit spontan entstandener Resistenz >30 . Diese sowie fremde Resultate sprechen dafür, dass Napavin vor allem cytostatisch, aber kaum als ein Chemosensitizer wirkt.

Bei der Durchfuehrung von Cytotoxizitaetstests mit riboflavinhaltigen Zellkulturmedien spielten die Belichtungsverhaeltnisse eine ausschlaggebende Rolle. Riboflavin wirkt in waessriger Loesung als Photosensitizer. Bei Einwirkung kurzwelliger Anteile des sichtbaren Spektrums entstehen reaktive Sauerstoffspezies, die Vinblastin degradieren. Letzteres entfaltet dementsprechend seine volle Cytotoxizitaet nur, wenn Riboflavin vor Photoreaktionen geschuetzt wurde.

Flavinvermittelte Photoreaktionen wurden unter normaler Arbeitsbeleuchtung durch Verwendung riboflavinfreien Mediums und Riboflavinzugabe am Ende des Versuchsansatzes bei Licht von mehr als 500 nm Wellenlaenge eliminiert, oder aber, bei Verwendung von riboflavinhaltigem Medium, durch Durchfuehrung des gesamten Versuchsansatzes bei der angegebenen Lichtqualitaet.

Unter diesen flavinschuetzenden Bedingungen wurden HK50-Werte fuer Vinblastin von $1 \pm 0,2$ nM bei HD34K-Zellen und von 20 ± 5 nM bei HD33C-Zellen ermittelt. Bei unkontrollierten Belichtungsbedingungen ging die Cytotoxizitaet von Vinblastin bei beiden Zellstaemmen demgegenueber auf weniger als ein Zehntel zurueck.

Zugleich verschlechterte sich die Testreproduzierbarkeit, so dass sich die Resultate von Tests mit sensiblen und resistenten Zellstaemmen ueberschnitten und keine Differenzierung mehr moeglich war.

Aufgrund der Unspezifitaet und Aggressivitaet flavinvermittelter Photoreaktionen ist damit zu rechnen, dass sie die in vitro-Cytotoxizitaet auch anderer Cytostatika nachhaltig beeintraehtigen. Chemosensibilitaetstests sollten deshalb nur unter Ausschluss flavinvermittelter Photoreaktionen erfolgen.