

5 Zusammenfassung

Die Multidrug Resistenz als induzierte Kreuzresistenz von Tumorzellen wird durch das membranständige Glykoprotein P-Gp 170 vermittelt. Die bereits in klinischen Studien untersuchten Chemosensitizer Ciclosporin und Verapamil bewirken über nicht genau bekannte Mechanismen eine Resensibilisierung der resistenten Zellen. Funktionelle Transportassays bieten eine sensitive Möglichkeit zur Abschätzung der Resistenz von Tumorzellen, da durch sie auch atypische Resistenzformen von Zellen erfaßt werden können. Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Validierung einer durchflußzytometrischen Methode zur Messung der Daunorubicinaufnahme von Tumorzellen mit unterschiedlichen Formen transportassoziierter Zytostatikaresistenz. Als Referenz wurde eine auf Radioaktivitätsmessung beruhende Silikonölfiltrationsmethode gewählt, die eine Aufteilung der Daunorubicingesamtaufnahme in einen gebundenen und zytosolischen Anteil ermöglicht.

Die Meßdaten der Daunorubicingesamtaufnahme zeigen in beiden Methoden mit $r^2 > 0,95$ eine gute Korrelation der beiden funktionellen Assays für die Tumorzelllinien CCRF CEM, F4-6, EPP85-181-Zellen, sowie für ihre resistente Subklone, bei denen überwiegend das P-Glykoprotein als Resistenzmechanismus wirksam ist. In folgenden Punkten ergaben sich jedoch Unterschiede zwischen den Meßergebnissen beider Methoden: In gemischten Zellsuspensionen war durchflußzytometrisch noch ein Zellanteil von $< 1\%$ erfaßbar, während im Transportassay allenfalls ein Zellanteil von $> 10\%$ nachgewiesen werden konnte. Der Einsatz der Chemosensitizer Dexniguldipin und Ciclosporin führte zu einer Verminderung der durchflußzytometrisch ermittelten Fluoreszenzintensität um bis zu 22%. Diese Abnahme der Daunorubicinakkumulation trat im Transportassay nicht auf. Eine Hemmung des P-Glykoproteins durch Verringerung der Temperatur auf 4°C führten im Transportassay in den resistenten CCRF CEM DAC-Zellen zu einer Erhöhung der Daunorubicinaufnahme um mehr als 130%. Durchflußzytometrisch wird diese vermehrte Daunorubicinaufnahme wahrscheinlich von einem Effekt der Abnahme der Fluoreszenzintensität überlagert, denn es wurde eine Abnahme der Fluoreszenz um $> 20\%$ gemessen. Bei den vesikelbildenden resistenten Zellen EPG85-257DAU mißt das Durchflußzytometer nach Inkubation der Zellen mit Dexniguldipin eine 2,3-fach geringere Daunorubicinaufnahme gegenüber der im Transportassay gemessenen gebundenen Daunorubicinakkumulation.

Eine gute Abschätzung der Daunorubicinaufnahme durch durchflußzytometrische Messungen ist somit abhängig von Kenntnissen über spezielle Resistenzmechanismen von Zellen und setzen standardisierte Untersuchungsbedingungen voraus.