

## 5. Zusammenfassung

Die Zytostatikaresistenz ist ein ernstzunehmendes Problem in der Therapie von Tumorpatienten. Für die Entwicklung der Multidrug Resistenz sind im wesentlichen das P-Glykoprotein (Pgp), kodiert von *mdr1* auf Chromosom 7, das Multidrug Resistenz-assoziierte Protein (MRP), kodiert von *mrp*, und das Lungen-Resistenzprotein (LRP), kodiert von *lrp*, beide auf Chromosom 16 lokalisiert, verantwortlich. In dieser Arbeit wurden die Expressionsmuster der MDR-assoziierten Proteine und -Gene bei 31 Kolonkarzinompatienten auf Korrelationen untersucht. Es kamen die konventionelle semiquantitative RT-PCR, die Real-Time RT-PCR (Light Cycler System) und die Alkalische-Phosphatase-anti-alkalische-Phosphatase-Methode (APAAP) zur Anwendung. Mit der semiquantitativen PCR konnten *mdr1*-, *mrp*- und *lrp*-mRNA bei allen 31 Patientenproben nach spätestens 37 Zyklen nachgewiesen werden. Mit dem Light Cycler lagen zwei der untersuchten Proben für *lrp* und *mdr1* und eine Probe für alle drei Resistenzgene unter der Detektionsgrenze. Auf Translationsebene erwiesen sich alle Gewebeproben für MRP positiv, bei drei Patienten konnte LRP und bei zwei Pgp nicht nachgewiesen werden. Es ergab sich bei der konventionellen PCR eine eindeutig positive Korrelation für *mrp* und *mdr1*. *Lrp* und *mrp*, sowie *lrp* und *mdr1* korrelierten schwach positiv. Die mit dem Light Cycler ermittelten Expressionsprofile ergaben hingegen eine eindeutig positive Korrelation für *lrp* und *mrp*. Für *mrp* und *mdr1* konnte nur eine schwach positive Korrelation nachgewiesen werden, während *lrp* und *mdr1* nicht korrelierten. Die positiven Korrelationen sprechen für eine Co-Regulation der Resistenzgene. Dies trifft besonders für *lrp* und *mrp* zu, die beide auf Chromosom 16 lokalisiert sind. Bei den Ergebnissen der Proteine wurden für Pgp und MRP, MRP und LRP, sowie für Pgp und LRP jeweils positive Korrelationen gefunden. Diese Co-Expression der Multidrug Resistenz-assoziierten Proteine stellt ein Hindernis für die Überwindung der Resistenz mit so genannten Modulatoren dar. Die Korrelationsanalysen zwischen den Ergebnissen der Gen- (Light Cycler) und der Proteinexpression ergaben für LRP eine eindeutig negative Korrelation. Bei MRP und Pgp wurden keine Korrelationen gefunden. Es konnte bei keinem der drei Multidrug Resistenz-assoziierten Gene eine Korrelation zwischen den beiden verschiedenen PCR-Methoden nachgewiesen werden. Bei den Versuchen auf Transkriptionsebene wurden unterschiedliche cDNA-Präparationen der einzelnen Patientenproben verwendet, was die mangelnde Korrelation erklären könnte. Nur für die Expressionsanalysen mit dem Light Cycler kamen für alle Gene die gleichen cDNAs zur Anwendung. Somit sind die Ergebnisse der Real-Time RT-PCR im Vergleich zur

semiquantitativen PCR zuverlässiger. Die Quantitative Real-Time RT-PCR ist schneller, reproduzierbarer und genauer als die konventionelle semiquantitative PCR. Letztere erfordert zur Quantifizierung post-PCR Blot-Verfahren, die zeitaufwendig und anfälliger für Kontaminationen sind. Immunhistochemische Methoden bestimmen die Expressionsprofile von Multidrug Resistenz-assoziierten Proteinen auf Einzelzellniveau und können so normale von neoplastischen Zellen unterscheiden. Dies ist bei der Polymerase-Kettenreaktion nicht möglich. Die fehlende Korrelation zwischen Transkriptions- und Translationsebene ist durch verschiedene Faktoren, wie mRNA-Spleißvarianten, mRNA-Stabilität, post-transkriptionelle Regulation der Proteinexpression oder Proteinstabilität erklärbar.

Es sind weitere Untersuchungen erforderlich, um die Aussagekraft der Multidrug Resistenz-assoziierten Gene und -Proteine im Bezug auf die Wirksamkeit von Zytostatikatherapien bei Tumorpatienten gänzlich beurteilen zu können.