

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit werden mit licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungsmethoden zwei neu etablierte, durch  $\text{Ni}_3\text{S}_2$  induzierte, Ratten-RMS-Zelllinien (6140-13, 6140-27) morphologisch charakterisiert und mit humanen RMS-Zelllinien (RD2 und TE 671) verglichen. Es erfolgte eine Behandlung der vier Zelllinien mit den bekannten Differenzierungsinduktoren Retinolsäure, serumdepleziertes Medium und TPA sowie mit den Chemotherapeutika Cisplatin und Etoposid und dem Antibiotikum Adriablastin.

Die Zellen der Ausgangskulturen der Ratten-RMS-Zelllinie 6140-13 und der humanen Zelllinie RD2 wiesen einen schwachen, die der humanen Zelllinie TE 671 einen mittleren und die der Ratten-RMS-Zelllinie 6140-27 einen hohen Differenzierungsgrad auf.

Die durch Retinolsäure und Serumdepletion induzierten Differenzierungsmerkmale waren deutlicher als die durch Cisplatin und Etoposid erreichten. Sie bestanden in einer verringerten Zellproliferation, in der Bildung elongierter Zellen und deren zentripolarer bzw. paralleler Ausrichtung zueinander, in der Fusion zu mehrkernigen myotubenähnlichen Zellen sowie in der Zunahme dünner und dicker zytoplasmatischer Filamente.

Unter den gewählten Versuchsbedingungen für die Chemotherapeutika Cisplatin und Etoposid wurde eine Differenzierung der Zellen erreicht, die sich in den relativ schwach differenzierten Linien 6140-13 und RD2 stärker ausprägte als in der Linie 6140-27.

Eine differenzierungsinduzierende Wirkung des TPA und des Adriablastin auf die Ratten-RMS-Zelllinie 6140-27 scheint aufgrund der geringen morphologischen Veränderungen fraglich.

Die mit licht- und elektronenmikroskopischen Methoden nachweisbaren morphologischen Veränderungen waren geringer, als es die immunhistochemischen Untersuchungen an der Universität Kiel erwarten ließen. Möglicherweise sind diese Methoden sensitiver und können filamentäre Strukturen bereits in Konzentrationen sichtbar machen, die mit elektronenmikroskopischen Untersuchungsmethoden noch nicht nachweisbar sind. Deshalb wären immunelektronenmikroskopische Methoden notwendig, um die topographische Anordnung von Filamenten in den Zellen demonstrieren zu können. Wahrscheinlich kommt es durch die Behandlung mit Zytostatika zu einer Änderung der Filamentarchitektur, die mit normaler Immunhistochemie nicht zu zeigen ist.

Die induzierten phänotypischen Veränderungen an den humanen und Ratten-RMS-Zelllinien sind vergleichbar, wobei eine Abhängigkeit vom Differenzierungsgrad der Ausgangskulturen besteht. Die beiden neu etablierten Ratten-RMS-Zelllinien 6140-13 und 6140-27 eignen sich aufgrund unserer histomorphologischen und ultrastrukturellen Ergebnisse als gutes Modell zur weiteren Erforschung der Differenzierungstherapie.

Dörr, André: Ultrastructural examination of rhabdomyosarcom cell lines after treatment with differentiation inducers, chemotherapeutic drugs and one antibioticum

## 6. SUMMARY

In this thesis, the structures examinable using light and electron microscopic methods of two newly established,  $\text{Ni}_3\text{S}_2$ -induced rat RMS cell lines (6140-13, 6140-27) are morphologically characterized and are compared with human RMS cell lines (RD2, TE 671). The four cell lines were treated with the known differentiation inducers retinoic acid, serum depleted medium and TPA as well as with the chemotherapeutic drugs cisplatin and etoposid and with the antibiotic drug adriablastin.

The cells of the initial cultures of the rat RMS cell line 6140-13 and the human cell line RD2 showed a low degree of differentiation, the human cell line TE 671 an intermediate, and the rat RMS cell line 6140-27 a high degree of differentiation.

The retinoic acid-induced and serum depletion-induced differentiating characteristics were more marked than those induced by cisplatin and etoposid. They consisted of a reduced cell proliferation rate, the formation of elongated cells and their centripolar or parallel alignment to each other, the fusion to multinucleated, myotube-like cells as well as the increase in the number of cytoplasmatic filaments.

Under the test conditions chosen for the chemotherapeutic drugs cisplatin and etoposid, a more pronounced cell differentiation was achieved in the relatively slightly differentiated lines 6140-13 and RD2 than in the line 6140-27.

Based on the limited morphological changes, a differentiation-inducing effect of TPA and adriablastin on the rat RMS cell line 6140-27 seems questionable.

The morphological changes detectable using light and electron microscopic methods were fewer than what could be expected based on the immunohistochemical examinations performed at the University Kiel. This methods may be more sensitive and can reveal filament structures in concentrations which are not yet detectable under the electron microscope. Thus, immunelectron microscopy would be needed in order to demonstrate the topographical arrangement of filaments in the cells. The treatment with the cytostatic drugs probably causes a change in the filament structure wich cannot be shown using the usual immunhistochemical methods.

The induced phenotypical changes in the human and rat RMS cell lines are comparable, whereby a dependance on the degree of differentiation of the initial cultures exists. Based on our histomorphological and ultrastructural results, the two established rat RMS cell lines 6140-13 and 6140-27 are suitable for use as good models for further research in differential therapy.