

Funktionelle Einschränkungen von humanen mesenchymalen Stammzellen (hMSC) durch Salinomycin

Norbert Kleinsasser, Stephan Hackenberg, Rudolf Hagen und Agmal Scherzad

Einleitung:

Salinomycin wird in der Veterinärmedizin zur Verhütung der Kokzidiose eingesetzt. Somit besteht auch für den Menschen eine chronische Exposition durch Konsum tierischer Produkte. Jüngst wurde eine selektive Wirksamkeit gegen sogenannte Tumorstammzellen erkannt. Dem Einsatz in der Onkologie stehen deutliche Wissenslücken zur Toxizität entgegen. Ziel dieser Studie war die Analyse der Salinomycin-Toxizität in hMSC nach Kurz- und Langzeitexposition.

Material und Methoden:

hMSC wurden für 24 Stunden mit Salinomycin in aufsteigenden Konzentrationen kultiviert. Die Zytotoxizität wurde hierbei mit dem MTT Assay bestimmt. Es folgten Expositionen über 4 Wochen mit nicht zytotoxischen Konzentrationen. Zielparameter waren in beiden Ansätzen die Vitalität, das Differenzierungspotential und die Migrationsfähigkeit der hMSC.

Ergebnisse:

Bei einer Kurzeitexposition zeigten sich zytotoxische Effekte ab einer Konzentration von 20 μ M, wobei keine Einschränkungen in Differenzierbarkeit, der Oberflächenmarker und Migration detektiert wurden. Nach Langzeitexposition ergaben sich eine Hemmung der osteogenen Differenzierbarkeit sowie eine verminderte Zellmotilität.

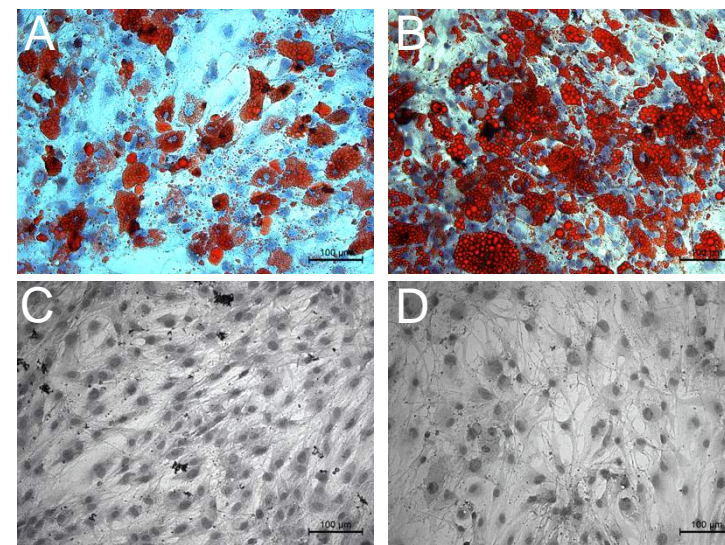


Fig. 1 Multidifferentierungspotential der hMSC. Adipogene (A) und osteogene (C) Differenzierung der hMSC ohne Zusatz von Salinomycin. Adipogene (B) und osteogene (D) Differenzierung der hMSC nach Langzeitexposition von Salinomycin

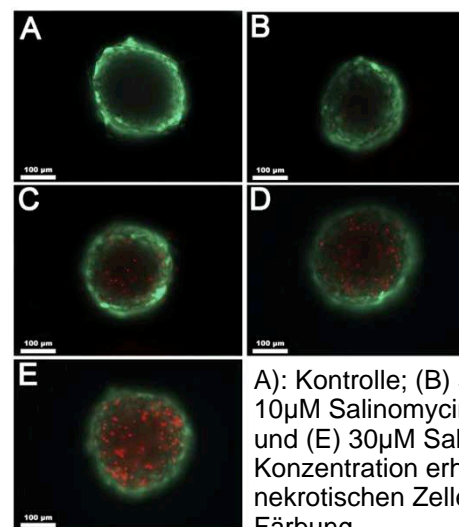


Fig. 4 Analyse der Zellvitalität nach Salinomycin-Kurzeitexposition
A): Kontrolle; (B) 5 μ M Salinomycin; (C) 10 μ M Salinomycin; (D) 20 μ M Salinomycin und (E) 30 μ M Salinomycin. Mit steigender Konzentration erhöht sich die Rate an nekrotischen Zellen, dargestellt als rote Färbung.

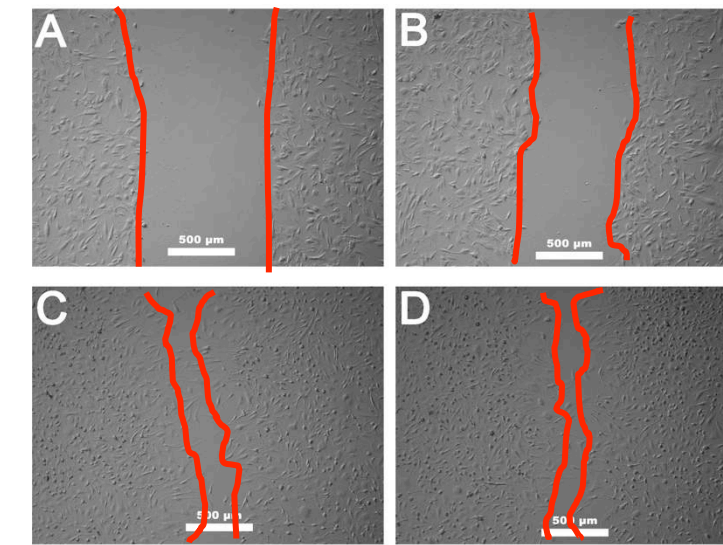


Fig. 2 Migrationspotential der hMSC nach Salinomycin-Kurzeitexposition. Migration der hMSC nach Einsetzen einer sog. Wunde zum Zeitpunkt t=0h (A) und t=24h (C) ohne Salinomycin. Migration der hMSC nach Einsetzen einer sog. Wunde zum Zeitpunkt t=0h (B) und t=24h (D) nach Kurzeitexposition (24h) mit Salinomycin.

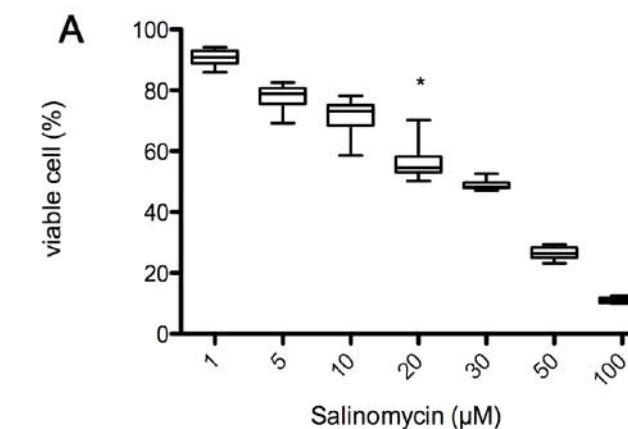


Fig. 5 MTT-Test zur Vitalitätsprüfung der hMSC nach Salinomycin-Kurzeitexposition. Ab einer Konzentration von 20 μ M zeigt sich eine signifikante Minderung der Zellvitalität.

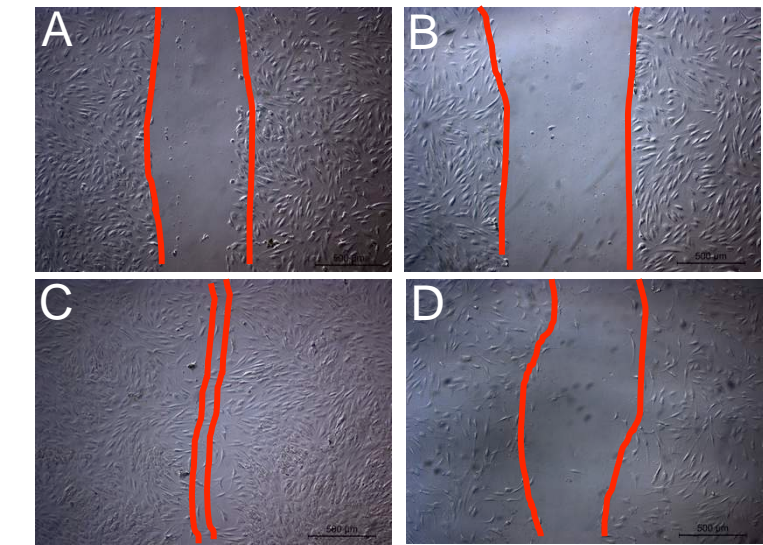


Fig. 3 Migrationspotential der hMSC nach Salinomycin-Langzeitexposition. Migration der hMSC nach Einsetzen einer sog. Wunde zum Zeitpunkt t=0h (A) und t=24h (C) ohne Salinomycin. Migration der hMSC nach Einsetzen einer sog. Wunde zum Zeitpunkt t=0h (B) und t=24h (D) nach Langzeitexposition (4 Wochen) mit Salinomycin.

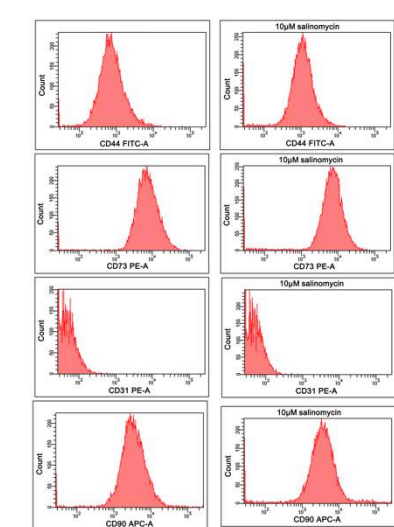


Fig. 6 Analyse der stamm-zelltypischen Oberflächenmarker nach Salinomycin-Kurzeit-exposition. Es zeigt sich keine Änderung der Oberflächenmarker nach Salinomycin-Kultivierung.

Schlussfolgerung:

Die Zytotoxizitätsschwelle für Salinomycin in hMSC liegt nach Kurzeitexposition deutlich oberhalb jener Konzentrationen, die zur selektiven Apoptoseinduktion in Tumorstammzellen erforderlich ist. Die vorliegende Studie zeigte allerdings funktionelle Einschränkungen von hMSC nach Langzeitexposition in nicht zytotoxischen Konzentrationen, weshalb die Einführung von Salinomycin in den Ernährungskreislauf kritisch zu sehen ist. Diese gestörte Funktionalität ist Ausgangspunkt für Untersuchungen in Epithelzellen des oberen Aerodigestivtraktes. Hierbei ist ein Fokus auf die Biodistribution und -elimination zu legen.