

Sarah Janina Seitz  
Dr.med

## **Charakterisierung der Wirkung von Zytostatika auf die Apoptosesignalwege beim Hepatozellulären Karzinom.**

Geboren am 15.06.1982 in Heidelberg  
(Staats-)Examen im Oktober 2009 an der Universität Jena.

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Martina Müller-Schilling

Apoptose, der programmierte Zelltod, gilt als ein Hauptmechanismus der Zytostatikawirkung. Tumorzellen können sich der Apoptose entziehen und so eine Resistenz gegenüber bestimmten Zytostatika entwickeln. Wir haben die Wirkung von Chemotherapeutika in Konzentrationen, die im Serum von Patienten unter Zytostatika- Therapie gemessen werden, auf die Apoptosesignalwege von Tumorzellen des hepatozellulären Karzinoms charakterisiert. Zytostatika in klinisch relevanten Konzentrationen induzieren die Apoptose von Tumorzellen. Chemotherapeutika können den programmierten Zelltod auslösen, indem sie 1) den extrinsischen Apoptosesignalweg ansprechen und die Todesrezeptoren CD95, TNF-R, TRAIL-R1 und -R2 aktivieren, 2) eine vermehrte Expression von FADD induzieren, 3) die Aktivierung von Caspasen induzieren, 4) den intrinsischen Apoptosesignalweg aktivieren und zu einer Depolarisation der Mitochondrienmembran führen, 5) die vermehrte Expression von p53, p63 und p73 induzieren, 6) die Expression von pro-apoptischen Molekülen der mitochondrialen Apoptosesignalwege induzieren, wie z.B. Bax. 7) Zytostatika induzieren allerdings auch die Expression anti-apoptischer Moleküle, wie FLIP, Bcl-xl und Mcl-1. Somit zeigte sich, dass die von uns verwendeten Chemotherapeutika sowohl über den extrinsischen, Todesrezeptor-vermittelten, Signalweg als auch über den intrinsischen, Mitochondrien-vermittelten Apoptosesignalweg wirken. Eine wichtige Rolle spielt hierbei die p53-Familie. Durch Chemotherapeutika kommt es zur DNA-Schädigung, die wiederum zur Aktivierung und Hochregulation aller drei p53-Familienmitgliedern p53, p63 und p73 führt. Unsere Versuche ergaben, dass es durch die Hemmung von p53, p63 und p73 zu einer deutlichen Verminderung der Chemotherapeutika-induzierten Apoptose kommt. Klinisch relevant ist vor allem, dass die Blockade der drei p53 Familienmitglieder mittels RNA Interferenz zu einer signifikanten Verminderung der Apoptose und somit zur Chemoresistenz führt. Das zeigt, dass die p53-Familie eine zentrale Rolle in der Chemotherapeutika-induzierten Apoptose spielt und dass die Herunterregulation/Mutation/Hemmung von

endogenem p53, TAp63 und TAp73 zu signifikanten Resistenzen gegenüber Chemotherapeutika in Tumorzellen führt.

Stimulations- und Inhibitionsexperimente des CD95-, TNF- und TRAIL-Rezeptorsystems zeigten, dass Chemotherapeutika über die p53 Familie zur Hochregulierung jeder dieser Todesrezeptoren führen und Tumorzellen hinsichtlich Apoptose sensitivieren. Im Weiteren zeigen unsere Ergebnisse, dass ein Zusammenhang zwischen den Chemotherapeutika, der p53 Familie und dem mitochondrialen Apoptosesignalweg im hepatozellulären Karzinom besteht. Durch Chemotherapeutika kommt es zur einer Hochregulierung der proapoptischen Bcl-2 Familienmitglieder BAX und BCL2L11 und APAF1, BNIP2, PDCD8 und RAD.

Die Chemotherapeutika Bleomycin, Doxorubicin und Mitoxantron induzieren nicht nur Signalwege, die Apoptose induzieren, sondern auch die Expression anti-apoptischer Moleküle/Signalwege. Bleomycin induziert zum Beispiel die Hochregulation des anti-apoptischen BCL-XL/ BCLXL1 und des p53-Antagonisten MDM2. Durch diese Mechanismen können sich Tumorzellen der Apoptose entziehen. Entscheidend für das Therapieansprechen ist daher das Verhältnis pro-apoptischer Proteine/Signalwege gegenüber den resistenzvermittelnden anti-apoptischen Proteinen/Signalwegen. Diese Untersuchungen bieten Möglichkeiten, die molekularen Mechanismen der Resistenzentwicklung von Tumorzellen gegenüber einer Chemotherapie aufzudecken und können als Basis für die Entwicklung neuer Anti-Tumorstrategien dienen.