



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Fakultät für Klinische Medizin Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Zytostatika- induzierte Modulationen des apoptotischen Signalwegs  
in chemoresistenten Melanomzellen**

Autor: Christine Katharina Kissel  
Institut / Klinik: Deutsches Krebsforschungszentrum /  
Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie  
Doktorvater: Prof. Dr. D. Schadendorf

Das maligne Melanom ist charakterisiert durch seine ausgeprägte Chemoresistenz, deren Mechanismen nur unzureichend geklärt sind. Für eine Vielzahl von Zytostatika konnte die Apoptoseinduktion als Wirkmechanismus belegt werden, so dass Apoptosedefizienz als ein Resistenzmechanismus zunehmend diskutiert wird. In der chemosensitiven, humanen Melanomzelllinie MeWo, sowie in ihren Cisplatin- und Etoposid- resistenten Sublinien MeWo<sub>Eto1</sub> und MeWo<sub>Cis1</sub> sollte zytostatika-induzierter, apoptotischer Zelltod näher charakterisiert werden. In vorangegangenen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass der Cisplatin- und Etoposid-induzierte Zelltod in sensitiven MeWo-Zellen über mitochondriell vermittelte Apoptose erfolgt. Die chemoresistenten Sublinien weisen bei Exposition mit ihrem jeweiligen Selektionszytostatikum (Cisplatin bzw. Etoposid) beide eine Blockade, bzw. Defizienz, in der apoptotischen Signaltransduktion auf. Ziel dieser Arbeit war es, diese apoptotische Defizienz hinsichtlich einer molekularen Fixierung versus einer möglichen Modulierbarkeit durch andere, sich von dem Selektionszytostatikum unterscheidende, Zytostatika zu untersuchen.

Unter Exposition mit Vindesin, Cisplatin, Fotemustin und den Topoisomerase-II- Hemmern Etoposid und Teniposid wurden definierte Inhibitionskonzentrationen (IC<sub>75</sub>, IC<sub>85</sub>, IC<sub>95</sub>) für die drei Zelllinien bestimmt. Hiernach wurde die mitochondriell vermittelte Apoptose anhand charakteristischer Vorgänge analysiert: Untersuchung der Cytochrom c- Freisetzung, der PARP-Spaltung, der Effektorcaspasen-Aktivität und der Expression von Bax und Bcl-2 mittels des Western Blot-Verfahrens, sowie der Caspase-9-Aktivität anhand des LEHD- AFC- Spaltungs- Assays.

In chemosensitiven MeWo- Zellen induzierten alle verwendeten Zytostatika Apoptose. Im Gegensatz hierzu konnten in Etoposid- resistenten MeWo<sub>Eto1</sub>- Zellen nach Exposition mit Teniposid kein apoptotischer Zelltod nachgewiesen werden. Dies entsprach den Ergebnissen unter Etoposid-Exposition. Nach Exposition von Vindesin konnte in dem verwendeten Konzentrationsbereich keine apoptotische Aktivität detektiert werden. Die Exposition der MeWo<sub>Eto1</sub>- Zellen mit Cisplatin oder Fotemustin belegte jedoch, dass in Etoposid- resistenten MeWo<sub>Eto1</sub>- Zellen Zytostatika- induzierte Apoptose in vollem Umfang auslösbar ist.

Cisplatin- resistente MeWo<sub>Cis1</sub>- Zellen zeigten nach Etoposid- und Fotemustin- Exposition im Vergleich zur Cisplatin- Exposition bei korrespondierenden Überlebensraten eine verstärkte Aktivität aller untersuchten Kaskadenkomponenten. Die Verwendung von Vindesin in diesen Zellen induzierte apoptotischen Zelltod, welcher dem Vindesin- induzierten Zelltod in chemosensitiven Zellen im Ausmaß entsprach.

Die Ergebnisse zeigen, dass der beobachtete chemoresistente Phänotyp in den Cisplatin- und Etoposid-resistenten Melanomzelllinien spezifisch für und abhängig von dem Selektionszytostatikum ist. Der mitochondrielle Signaltransduktionsweg ist durch andere Zytostatika wieder im vollen Ausmaß aktivierbar. Eine vollständige molekulare Fixierung der beobachteten Veränderungen des Signalwegs liegt nicht vor, da sie sich durch Verwendung anderer Zytostatika größtenteils aufheben lässt. Die Daten bestätigen, dass ein Chemotherapeutikawechsel bei auftretender Chemoresistenz in der Klinik, sinnvoll ist und könnten einen möglichen Angriffspunkt für therapeutischen Intervention liefern.