

Stefan Schmitt
Dr. med.

Inhibition von Angiogenese durch nicht-toxische Dosen von Temozolomid – Eine experimentelle Arbeit

Geboren am 27.07.1976 in Karlsruhe
(Staats-)Examen am 10.11.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Dermatologie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. H. Kurzen

In den vorgelegten Experimenten konnten wir demonstrieren, dass Temozolomid in vivo in der Lage ist, Angiogenese in niedrigen, nicht-toxischen Dosen zu inhibieren, wobei die kleinste Konzentration, mit der wir eine signifikante Hemmung zuvor induzierter Neubildung von Blutgefäßen erreichen konnten, bei 5 μM lag. Dies war in den mit 3T3-konditioniertem Medium durchgeführten CAM-Assays sowie in unseren Matrigel-Assay-Versuchen der Fall. Die Hemmung der Proteinkinase-C, die über PMA stimuliert worden war, der endothelialen Zellvermehrungsrate in unseren Proliferations-Inhibitions-Analysen sowie die Hemmung der zellulären Adhäsion an Fibronectin, allesamt an HUVEC getestet, scheinen letztlich nicht hauptsächlich in die beobachteten antiangiogenen Effekte involviert zu sein. Dies gilt darüber hinaus auch für die mit bFGF als Stimulans durchgeführte CAM-Assay-Reihe. Denn in den erwähnten Experimenten lag die Konzentration des Chemotherapeutikums, die zu einer signifikanten Angiogenese-Inhibition führte, bei 25 μM , in den mit bFGF durchgeführten und gepoolten Proliferations-Inhibitions-Analysen sogar nur bei 50 μM , und damit deutlich höher als die zu Beginn dieses Abschnittes erwähnte Dosis von 5 μM .

Darüber hinaus konnten wir in unseren originalen Adhäsions-Assays mit einer Matrix aus Fibronectin mit TMZ-Konzentrationen zwischen 5 und 50 μM nach Ablauf von 90 Minuten sogar eine signifikant verstärkte HUVEC-Proliferation erzielen.

Die Tatsache, dass wir genau in den Experimenten die stärkste Angiogenese-Hemmung durch TMZ beobachten konnten, bei denen wir nicht mit einzelnen und klar definierten Zytokinen, sondern mehr mit Gemischen biologisch wirksamer Substanzen experimentierten, kompliziert die Auflösung der molekularen Wirkmechanismen.

Auch setzten wir in den Matrigel-Assays die verwendeten Endothelzellen einer Beschichtung aus den verschiedensten Komponenten der extrazellulären Matrix neben dem zuvor schon besprochenen 3T3-konditioniertem Medium als Cocktail unterschiedlichster Zytokine aus, was die Auflösung der beobachteten Effekte ebenfalls kompliziert. Hinsichtlich des Wechselspiels zwischen TMZ und den verschiedenen, für die Angiogenese bedeutsamen Faktoren sind weitere Studien notwendig, um den exakten antiangiogenen Wirkmechanismus von TMZ zu ermitteln.

Die niedrigste Konzentration, mit der wir im lebenden Organismus einen signifikant inhibierenden Einfluss auf Angiogenese durch TMZ erreichen konnten (5 μM = 1 $\mu\text{g/ml}$), kann in vivo durch die orale TMZ-Verabreichung von 20 mg/m^2 Körperoberfläche erzielt werden. Bei Betrachtung des pharmakokinetischen Profils des Chemotherapeutikums würde nach Agarwala et Kirkwood (2000) eine orale Applikation dieser Dosis alle 8 Stunden zu einem konstanten Serumspiegel führen. Interessanterweise wurden in Phase I-Studien schon Dosen bis hinauf zu 75 mg TMZ/m^2 Körperoberfläche als Tagesbasis verwendet, mit denen dort antitumoröse Effekte erzielt wurden (Newlands et al., 1997).

Folglich könnte die bereits bekannte antineoplastische Wirkung von Temozolomid bei bestimmten Tumorentitäten, zumindest teilweise, durch seine antiangiogenen Eigenschaften

bedingt sein, welche für das Therapiefeld bösartiger Neubildungen einen weiteren Pfad zur Entwicklung innovativer, gut zu tolerierender sowie oral zu applizierender TMZ-Therapiedesigns schaffen würden.