

Jakob Liermann

Dr. med.

Radiosensibilisierende Eigenschaften von Oridonin, Ponicidin und Sulforaphan im Pankreaskarzinom *in vitro*

Fach/Einrichtung: Radiologie

Doktormutter: Prof. Dr. med. Stephanie E. Combs

Das Pankreaskarzinom gehört mit einem seit Jahrzehnten konstant niedrigen 5-Jahresüberleben von ca. 5% zu den Krebserkrankungen mit der schlechtesten Prognose, weshalb es innovativer, wirksamerer Therapieschemata bedarf. Dies gilt in besonderem Maße für die Gruppe der lokal fortgeschrittenen, inoperablen und nicht metastasierten Tumoren, da diese durch eine neoadjuvante Therapie einer potentiell kurativen Operation zugeführt werden können.

Die hier untersuchten Phytotherapeutika Oridonin und Ponicidin stammen aus der Traditionellen Chinesischen Medizin und weisen in verschiedenen Tumorzelllinien zytotoxische Eigenschaften auf. Sulforaphan kann aus Kreuzblütlern, wie zum Beispiel Brokkoli oder Kohl, extrahiert werden und zeigt neben krebspräventiven auch antineoplastische Eigenschaften. Im Pankreaskarzinom wirkt es vor allem als Apoptose- und Autophagieinduktor.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung dieser drei vielversprechenden potentiell neuen Wirkstoffe im Pankreaskarzinom *in vitro* insbesondere im Hinblick auf mögliche radiosensibilisierende Effekte untersucht.

Hierzu wurde zunächst das klonogene Überleben der vier etablierten Pankreaskarzinomzelllinien AsPC-1, BxPC-3, Panc-1 und MIA PaCA-2 nach Wirkstoffeinzel- oder kombinierter Therapie, bestehend aus Wirkstoff und Bestrahlung, ermittelt. Anschließend erfolgte die Analyse der Wirkung auf die Verteilung der Zellen in den Zellzyklusphasen mittels Durchflusszytometrie, sowie die Messung möglicher DNA-Doppelstrangbrüche durch die Quantifizierung von γ H2AX, ebenfalls mittels Durchflusszytometrie. Zur Untersuchung möglicher DNA-Doppelstrangbruchreparatur-Veränderungen wurden im Western Blot das Heterodimer Ku, sowie das Protein XRCC4 untersucht. Diese Proteine spielen eine tragende Rolle in einem der beiden entscheidenden DNA-Doppelstrangbruch-Reparaturwege, dem nicht-homologen End-joining.

Alle drei Wirkstoffe führten zu einer dosisabhängigen Abnahme des klonogenen Überlebens und zu einem G2/M-Arrest. Sulforaphan zeigte diesbezüglich das größte Potential. In Kombination mit der Bestrahlung zeigten sich additive Effekte und ein

prolongierter G2/M-Arrest. Zusätzlich kam es vermehrt zu DNA-Doppelstrangbrüchen. Nach Sulforaphantherapie konnte des Weiteren eine Herunterregulation der DNA-Doppelstrangbruchreparatur-relevanten Proteine Ku70, Ku80 und XRCC4 beobachtet werden, was als Folge einer Herunterregulierung des nicht-homologen End-joinings gewertet werden kann.

Die beobachteten additiven Effekte sind zum Teil durch den Wirkstoff-induzierten G2/M-Arrest erklärbar, da Zellen in der G2/M-Phase radiosensitiver sind. Die mögliche radiosensibilisierende Wirkung von Sulforaphan beruht außerdem mutmaßlich auf der Herunterregulierung des nicht-homologen End-joinings mit einer wahrscheinlich konsekutiv vermehrten Anwendung der Homologen Rekombination.

Oridonin, Ponocidin und Sulforaphan stellen drei vielversprechende neue potentielle Wirkstoffe dar, die im Rahmen einer kombinierten Therapie, zum Beispiel mit etablierten Behandlungsmöglichkeiten wie der Strahlentherapie, zur Therapie des Pankreaskarzinoms eingesetzt werden könnten. Die *in vitro*-Ergebnisse der vorliegenden Arbeit weisen darauf hin, dass die Ansprechraten einer neoadjuvanten Bestrahlung durch Kombination mit diesen Substanzen verbessert und hierdurch mehr Pankreaskarzinompatienten einer potentiell kurativen Operation zugeführt werden könnten. Zum besseren Verständnis und zur weiteren Evaluation der drei Wirkstoffe sollten jedoch zunächst *in vivo*-Experimente und Versuche mit trimodalen Therapieschemata, bestehend aus Bestrahlung, den momentan gängigen Chemotherapien Gemcitabin bzw. „FOLFIRINOX“ (Folinsäure, 5-Fluoruracil, Irinotecan, Oxaliplatin) und dem jeweiligen Wirkstoff durchgeführt werden.