

Sarah Natalie Kattner
Dr. med.

Wirksamkeitsnachweis von Salinomycin-Analoga in humanen kolorektalen Karzinomzellen

Fach/Einrichtung: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Martin Schneider

Das kolorektale Karzinom ist eine der häufigsten Neoplasien weltweit und belegt in Deutschland bei den Männern Platz drei und bei den Frauen Platz zwei aller Tumorentitäten. Trotz der sich immer weiter entwickelnden Therapiemöglichkeiten manifestieren sich häufig Rezidive und Resistenzen gegenüber den bisher etablierten Therapiekonzepten, sodass es eines der häufigsten Krebstodesursachen bei Erwachsenen bleibt. Ein Grund für das Versagen der bisherigen Therapieansätze wird den Tumorstammzellen zugesagt, den Initiatoren für Tumorbildung und Selbsterneuerung, die darüber hinaus verschiedene Resistenzmechanismen gegenüber Chemotherapeutika und Radiatio aufweisen.

Ebendies verdeutlicht welche essentielle Bedeutung die Eradikation der Tumorstammzellen in der Therapie des kolorektalen Karzinoms einnimmt. Das Polyetherantibiotikum Salinomycin gilt aufgrund seiner zytotoxischen und Stammzell-spezifischen Effekte als wirksamster zur Verfügung stehender Inhibitor von Tumorstammzellen. Salinomycin hat sich bereits in vielen verschiedenen soliden und nicht-soliden Tumorentitäten als hochpotentes Agens gegen Tumor- als auch Tumorstammzellen erwiesen. Allerdings muss von einer vermeintlichen Toxizität dieses Polyetherantibiotikums ausgegangen werden. Einzelfallberichte von Tier- als auch Mensch-Intoxikationen lassen auf eine sehr geringe therapeutische Breite schließen.

Mit der Modifikation des Ausgangsstoffes hofft man Salinomycin-Analoga mit einer höheren antitumorösen Wirkung synthetisiert zu haben und somit die potentiellen Nebenwirkungen minimieren zu können. Versuche in Mammakarzinomzellen konnten zeigen, dass die verwendeten Salinomycin-Analoga eine höhere antitumoröse Aktivität als die Ausgangssubstanz Salinomycin aufweisen und bei niedrigeren Konzentrationen einen höheren Effekt erzielen können.

Auf dieser Grundlage basiert die Fragestellung dieser Promotionsarbeit. Ziel war es, den Effekt der Salinomycin-Analoga Acetat, Carbamat, Carbonat, SY1 und C1-Methylester im Vergleich zu Salinomycin in vier verschiedenen immortalisierten humanen kolorektalen Karzinomzellen (SW480, SW620, HCT116, HT29) zu untersuchen. Dabei wurde genauer der Einfluss auf die Tumorzellviabilität, -proliferation, dem Migrationsverhalten, der Stammzellmarker-Expression und die Induktion des Zelltodes untersucht. Da sich C1-Methylester bereits in vorhergegangenen Studien als inaktiv erwiesen hat, wurde er auch hier mit der Intention als Negativ-Kontrolle verwendet.

Der Einfluss auf die Viabilität der Tumorzellen wurde mithilfe des WST-1-Assays und des PrestoBlue-Assays untersucht. Bei beiden Versuchen wiesen die Analoga Acetat, Carbamat und Carbonat eine höhere Aktivität im Vergleich zu Salinomycin auf. Die Zellproliferation wurde mithilfe des BrdU-Assays analysiert. Auch hier manifestierte sich analog zu den Ergebnissen der Viabilitäts-Assays bei den drei C20-acylierten Analoga der stärkste Effekt. Der Wound-healing-(Scratch-)Assay und der Transwell Migrations-Assay dienten der Bestimmung des Migrationsverhaltens. Hier war vor allem beim Transwell Migrations-Assay

eine bedeutende Reduktion migrierender Zellen unter Stimulation der C20-acylierten Analoga schon bei nanomolaren Konzentrationen ersichtlich. Die Aktivität Salinomycins erwies sich als signifikant geringer. Im Immunfluoreszenz-Nachweis der Stammzellmarker manifestierte sich dagegen kein Einfluss von Salinomycin und den Salinomycin-Analoga auf die Expression der beiden Stammzellmarker EpCAM und CD44.

Zuletzt wurde die Induktion des Zelltodes untersucht. Mithilfe des LDH-Nachweises, des Annexin V/PI-Assays sowie der TUNEL-Färbung konnte die Aktivität der Analoga nachgewiesen und einen stärkeren Effekt der C20-acylierten Analoga im Vergleich zu Salinomycin bestätigt werden.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die zytotoxische Aktivität der drei Analoga Acetat, Carbamat und Carbonat in kolorektalen Tumorzellen und ihre Überlegenheit gegenüber Salinomycin in dieser Promotionsarbeit nachgewiesen wurde. Um einen potentiellen klinischen Einsatz realisieren zu können, sind weitere Untersuchungen im Hinblick auf Wirkmechanismus, Tropismus sowie zur Wirksamkeit in primären Tumorstammzellen des kolorektalen Karzinoms in vitro und in vivo notwendig.