



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

In-vitro-Testung von Alvocidib an Knochenmarkstammzellen von Patienten mit Hochrisiko-MDS

Autor: Alina Wein
Institut / Klinik: III. Medizinische Klinik
Doktorvater: Prof. Dr. D. Nowak

Myelodysplastische Neoplasien (MDS) sind eine Gruppe maligner Erkrankungen der Hämatopoese. Das prognostisch ungünstige *High-Risk*-MDS geht mit einer verminderten Apoptoserate und einer erhöhten Wahrscheinlichkeit, eine akute myeloische Leukämie zu entwickeln, einher. Zur Behandlung ist die Substanz 5-Azacitidin etabliert, welche jedoch häufig primär oder sekundär versagt. Frühere Arbeiten legen nahe, dass der CDK9-Inhibitor Alvocidib und 5-Azacitidin aufgrund gemeinsamer Angriffspunkte in der Apoptoseregulation eine synergistische Wirkung zeigen. Ziel dieser Arbeit war es, die Kombination der beiden Substanzen Alvocidib und 5-Azacitidin an CD34+ hämatopoetischen Stammzellen von *High-Risk*-MDS-Patienten und gesunden Personen zu testen und zu ermitteln, ob eine synergistische Wirkung vorliegt und ob es Biomarker gibt, die mit einer erhöhten Suszeptibilität gegenüber den Substanzen korrelieren. CD34+ Zellen aus kryokonservierten Knochenmark-Proben von n=45 MDS-Patienten sowie n=12 gesunden Spendern wurden kultiviert und mit den Substanzen Alvocidib und 5-Azacitidin sowohl einzeln als auch in Kombination behandelt. Anschließend wurde die Zellviabilität mittels des „*Luminescent Cell Viability Assay*“ und die Anzahl der apoptotischen Zellen durchflusszytometrisch gemessen und das Verhältnis zur unbehandelten Kontrollgruppe ermittelt. Mittels *Myeloid-Panel*-Sequenzierung wurde der Mutationsstatus der Patienten erhoben und in Relation zur Zellviabilität nach Behandlung gesetzt. In der MDS-Kohorte zeigten sich eine signifikant geringere Zellviabilität und eine höhere Apoptoserate nach der Kombinationsbehandlung im Vergleich zur Behandlung mit den einzelnen Substanzen. Die Zellviabilität war in der Gruppe mit der höchsten Dosierung im Mittel am niedrigsten und der Anteil der apoptotischen Zellen im Apoptose-Assay am höchsten. Alvocidib und 5-Azacitidin zeigten eine additive Wirkung auf die Zellen. Im Vergleich zur gesunden Kohorte war die Zellviabilität in der MDS-Kohorte signifikant geringer und die Apoptoserate signifikant höher. In einer multivariablen Analyse wurde das Vorliegen von ASXL1-Mutationen als unabhängiger Faktor für eine erhöhte Sensitivität der MDS-Proben gegenüber der Behandlung mit 5-Azacitidin und Alvocidib identifiziert. Die ASXL1-Mutation bietet mit der Inhibition von Apoptose über einen gemeinsamen Signalweg mit Alvocidib einen für die Substanz pathomechanistisch relevanten Angriffspunkt. Die vorliegenden Ergebnisse liefern eine Grundlage für die weitere klinische Erprobung der Kombination von Alvocidib und 5-Azacitidin in Patienten mit *High-Risk*-MDS und der Hinzunahme des ASXL1-Mutationsstatus als Stratifikationsmarker.