

Vielversprechendes Additivum zur Chemotherapie

Resensitivierung Cisplatin-resistenter **Harnblasenkarzinomzellen** mittels Artesunat-induziertem Zellzyklusarrest und Zelltod

MAINZ Die semisynthetische Substanz Artesunat (ART) konnte in verschiedenen Tumorentitäten antitumorale Aktivität zeigen. Da ART unter anderem über eine Hemmung von DNA-Reparaturmechanismen wirkt, könnte es insbesondere in der Kombination mit Cisplatin im Harnblasenkarzinom (BCa) vielversprechend sein.

Das BCa ist die zweithäufigste urologische Malignität. Die Erkrankung ist besonders tückisch und kostenintensiv, da auch zuvor vermeintlich harmlose Fälle nach Behandlung im weiteren Verlauf häufig rezidivieren oder einen invasiven beziehungsweise systemischen Progress zeigen. Im fortgeschrittenen BCa stellt die Cisplatin-basierte Chemotherapie eine relevante Standardtherapie dar.

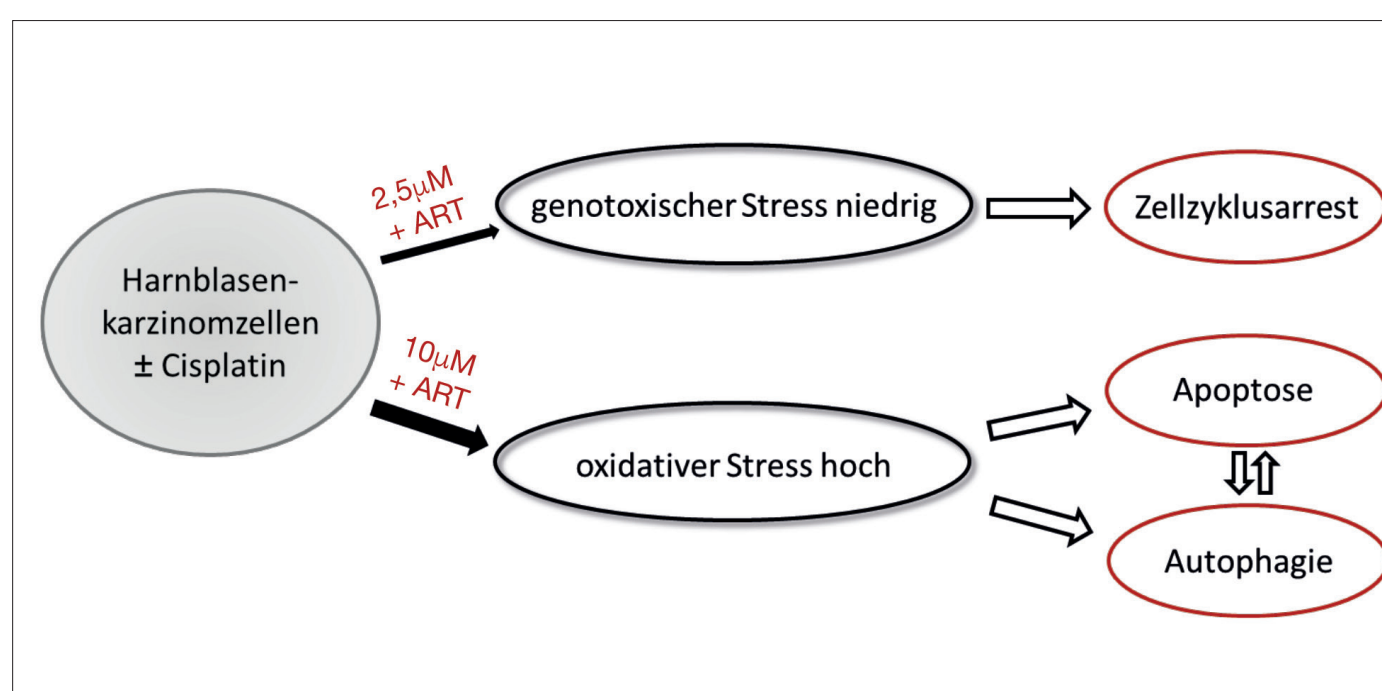


Abb. 1: Postulierte Wirkmechanismen von unterschiedlichen ART-Konzentrationen in parentalen und Cisplatin-resistenten BCa-Zellen. Die niedrige Konzentration von ART (2,5 µM) resultiert in einem vergleichsweise geringen genotoxischen Stress, induziert aber Effekte, die zu einem Zellzyklusarrest in der G0/G1-Phase führen. Bei hoher ART-Konzentration (10 µM) kommt es hingegen zur erhöhten Ausbildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), einer Beeinträchtigung des mitochondrialen Metabolismus sowie einer Induktion von Autophagie und Apoptose.

Cisplatin greift dabei die DNA der Zellen an und induziert DNA-Schäden, die in der Folge zum Zellzyklusarrest und programmierten Zelltod (Apoptose) führen. Das Ansprechen und somit die klinische Effektivität sind jedoch zeitlich limitiert. Maßgeblich dafür verantwortlich ist die Ausbildung von Therapieresistenzen. Verschiedene Mechanismen sind bei der Entstehung einer Cisplatinresistenz involviert. Unter anderem wird die Aktivität von Reparaturmechanismen erhöht und so die Apoptoseinduktion umgangen. ART, abgeleitet aus dem Naturstoff des Einjährigen Beifuß (*Artemisia annua*), Artemisinin, hat in verschiedenen Tumor-entitäten anti-tumorale Wirkung gezeigt¹. Der Einjährige Beifuß findet in der Traditionellen Chinesischen Medizin schon seit mehr als 2000 Jahren als Anti-Malaria-Medikament Anwendung. Sowohl Artemisinin als auch ART reagieren dabei mit Eisen und induzieren die Generierung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS). Der Malariaerreger und Krebszellen weisen erhöhte Eisenspiegel auf und sind somit anfällig für ART. Dabei scheint ART auch die DNA-Reparatur in den Tumorzellen zu inhibieren und konnte so supportive Effekte in Kombination mit Chemotherapeutika aufzeigen²⁻⁴. In der vorliegenden Studie sollte daher untersucht werden, inwiefern ART auf sensitive (parentale), aber insbesondere auf Cisplatin-resistente Harnblasenkarzinomzellen Einfluss nehmen kann. Dazu wurden parentale und Cisplatin-resistente BCa-Zellen, TCCSup, RT122, RT4 und T24, für 24, 48 und 72 Stunden mit ART behandelt. ART-unbehandelte Zellen dienten als Kontrollen. In Dosis-Wirkung-Analysen wurden der Einfluss von ART (1–100 µM) auf das Wachstum untersucht und der optimale Wirkungsbereich ermittelt. Zudem wurden Untersuchungen zur Proliferation und Verteilung in den Zellzyklusphasen zur Eruierung eines möglichen Zellzyklusarrests durchgeführt. Mittels funktioneller und molekularbiologischer Studien konnte ferner die Induktion von Zelltodeignissen wie apoptotischen und nekrotischen Effekten, der Ferroptose (eisenabhängiger programmierter Zelltod) und der Autophagie nach ART-Behandlung bestimmt werden. Weiterhin wurde die metabolische Aktivität nach ART-Exposition evaluiert.

Effekte von Artesunat

ART bewirkte eine zeit- und dosisabhängige signifikante Inhibition des Wachstums und der Proliferation in den parentalen und Cisplatin-resistenten BCa-Zellen im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen. Bei geringer ART-Dosis (2,5 µM) ging dies mit einem Zellzyklusarrest in der G0/G1-Phase und entsprechenden Modulationen der zellzyklusregulierenden Proteine einher. Apoptotische Ereignisse waren bei dieser ART-Konzentration nicht oder kaum detektierbar. Die hochdosierte ART-Gabe [10 µM] resultierte hingegen insbesondere in signifikanten apoptotischen Effekten. Dabei kam es unter anderem zur Akkumulation von gespaltener Poly-ADP-Ribose-Polymerase 1 (PARP-1) in den parentalen und Cisplatin-resistenten BCa-Zellen, was auf einen ver-

stärkten oxidativen und genotoxischen DNA-Schaden hinweisen könnte. Weiterhin war eine signifikante Abnahme des anti-apoptotischen Proteins Bcl-2 und eine Zunahme des proapoptotischen Proteins Bax in den BCa-Zellen zu beobachten, was für die Induktion der intrinsischen mitochondrialen Apoptose sprechen könnte. Tatsächlich konnten Anzeichen für eine mitochondriale Dysfunktion nach hochdosierter ART-Zugabe in den parentalen und Cisplatin-resistenten BCa-Zellen nachgewiesen werden. So war eine deutliche Hemmung der mitochondrialen Atmungskettenaktivität und Energie (ATP-Produktion) messbar.

Zudem bewirkte hochdosiertes ART die Aktivierung der Autophagie. Ferroptotische Ereignisse und antioxidative Effekte in Form von Veränderung der Expression der Glutathion-Peroxidase 4 (GPX4) konnten nach ART-Exposition hingegen nicht detektiert werden.

Fazit

Aufgrund unserer Daten postulieren wir, dass ART als Additivum in der Therapie für Patienten mit fortgeschrittenem und Cisplatin-resistentem BCa vielversprechend sein könnte. Weiterführende In-vitro- und In-vivo-Untersuchungen sind notwendig, um dies zu verifizieren. ■

Literatur:

1. Efferth T. *Semin Cancer Biol* 2017;46: 65–83.
2. Luo J et al. *Radiat Oncol* 2014;9:84.
3. Fei Z et al. *J Pharmacol Sci* 2018;138(2):131–137.
4. Wang B et al. *Cancer Biol Ther* 2015; 16(10):1548–1556.

Autoren:

Fuguang Zhao¹, Olesya Vakhrusheva¹, Sascha Markowitsch¹, Igor Tsaour¹, René Mager¹, Martin Michaelis², Jindrich Cinat³, Thomas Efferth⁴, Axel Haferkamp¹, Eva Jüngerl¹

1. Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität, Mainz

2. Industrial Biotechnology Centre and School of Biosciences, University of Kent, Großbritannien

3. Institut für Medizinische Virologie, Goethe-Universität, Universitätsklinikum Frankfurt

4. Institut für Pharmazie und Biochemie, Abt. Pharmazeutische Biologie, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz

Korrespondenz:

Dr. rer. nat. Olesya Vakhrusheva
Stv. Laborleiterin
E-Mail:
olesya.vakhrusheva@unimedizin-mainz.de

Vortragssitzung V16 „Urothelkarzinom – Fortgeschrittene und metastasierte Tumoren“, täglich 11:00–11:55