

Preis für das beste Poster der Deutschen Gesellschaft für Toxikologie in der DGPT

Einfluss von Doxorubicin auf die Differenzierung embryonaler Stammzellen der Maus (mESC) in kardiovaskuläre Zelltypen

Sarah K. Jahn

Institut für Toxikologie, Medizinische Fakultät, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Moorenstraße 5, 40225 Düsseldorf

Vaskuläre Endothelzellen kleiden das gesamte Gefäßsystem aus und erfüllen zahlreiche Funktionen bei physiologischen und pathophysiologischen Prozessen. Aufgrund ihrer Barrierefunktion sind Endothelzellen einer Vielzahl an systemisch vorhandenen Noxen ausgesetzt, welche Stressantworten und Zelltod verursachen können. Anthrazyklin-Derivate, wie Doxorubicin, spielen eine wichtige Rolle bei der Behandlung verschiedener Arten von Tumorerkrankungen. Allerdings weisen Anthrazykline zahlreiche adverse Wirkungen auf, wobei die irreversible Kardiotoxizität die klinisch relevanteste ist. Neben Kardiomyozyten wird derzeit vermutet, dass auch eine Schädigung von Endothelzellen für die Pathophysiologie der Anthrazyklin-induzierten Kardiotoxizität bedeutsam ist.

Embryonale Stammzellen haben die Fähigkeit sich in alle Zelltypen der drei Keimbahnen (Ekto-, Endo- und Mesoderm) differenzieren zu können. Die Vorteile dieser Zellen für molekulare *in vitro* Analysen in der medizinischen Forschung sind nicht nur die Unterstützung des 3R-Konzepts (*Reduction, Refinement and Replacement of animal experiments*), sondern auch die Möglichkeit der Generierung von *in vitro* Krankheitsmodellen oder einer Plattform zur pharmakologischen/toxikologischen Analyse von Medikamentenwirkungen. Nach Etablierung eines erfolgreichen *in vitro* Differenzierungsmodells von embryonalen Stammzellen der Maus (mESC) zu Endothelzell-ähnlichen Zellen (EC), wurde die zytotoxische Wirkung von Doxorubicin auf diesen Zelltyp analysiert. Zudem wurden mESC Zellen während des Differenzierungsprozesses mit unterschiedlichen Doxorubicinkonzentrationen behandelt (Pulsbehandlung) und am Ende des Differenzierungsprozesses analysiert.

Die Resultate zeigten, dass sich die Sensitivität des differenzierten Zelltyps gegenüber Doxorubicin im Verlauf des Differenzierungsprozesses ändert, wobei die Differenzierung in

EC nur partiell beeinflusst wurde. Doxorubicin führte dosisabhängig zu einer Reduktion der Zellviabilität und Proliferation, sowie zur Induktion von Apoptose in undifferenzierten mESC und EC. Endothelzellen, die früh während des Differenzierungsprozesses behandelt wurden, wiesen eine erhöhte Sensitivität gegenüber Doxorubicin im Vergleich zu mESC und terminal differenzierten Endothelzellen auf. Interessanterweise hatte Doxorubicin keinen Einfluss auf die Expression von Endothelmarkergenen auf mRNA-Ebene. Auf Proteinebene (Immunocytochemie) wurde nur bei hoch zytotoxischer Konzentration ein inhibitorischer Effekt beobachtet. Auch auf die Funktion von Endothelzellen, wie beispielsweise die Aufnahme von LDL, hatte Doxorubicin keinen signifikanten Einfluss. Jedoch reduzierte eine hohe Doxorubicinkonzentration die intrazelluläre Kalziumkonzentration, wobei die ATP-stimulierte Kalzium-Freisetzung durch Doxorubicin nicht beeinflusst wurde. Behandelte EC zeigten im Vergleich zu unbehandelten mESC eine deutliche Herunterregulierung der mRNA Expression verschiedener DNA-Reparatur-assoziierten Faktoren, was auf eine veränderte Genotoxin-Suszeptibilität hindeutet.

Nachdem wir kürzlich auch ein robustes Protokoll zur Differenzierung von Stammzellen in Kardiomyozyten-ähnliche Zellen erfolgreich etablieren konnten, arbeiten wir derzeit an der Untersuchung des Einflusses von Doxorubicin auf die Kardiomyozyten-Differenzierung und -Funktion. Ziel ist eine vergleichende Analyse von Doxorubicin auf die Sensitivität und Differenzierung von Endothelzell-ähnlichen und Kardiomyozyten-ähnlichen Zellen, um (i) die Pathophysiologie der Anthrazyklin-induzierten Kardiotoxizität weiter zu charakterisieren und (ii) kardioprotektive Strategien zu entwickeln.