

Zusammenfassung

Das B-Zell-Lymphom-2 (BCL2) Onkogen ist bei der chronischen lymphatischen Leukämie (CLL) und anderen Lymphomen wie dem Follikulären Lymphom oder dem Diffus großzelligen B-Zell-Lymphom stark exprimiert. Venetoclax (VEN; ABT-199), ein selektiver BCL2-Inhibitor, hat sich bei der Behandlung von Patienten mit einer Hochrisiko CLL als sehr wirksame Substanz erwiesen und ist zur Behandlung von Patienten mit CLL und akuter myeloischer Leukämie zugelassen. Die Resistenzmechanismen gegen Venetoclax sind bisher jedoch noch nicht vollständig verstanden. Um Patienten Behandlungsmöglichkeiten nach einem Versagen der Therapie mit Venetoclax anzubieten, ist es wichtig zu verstehen, wie die Resistenz gegen Venetoclax vermittelt wird. Die Analyse von Lymphom-Zelllinien, sowie Proben von Patienten mit CLL oder einem anderen Non-Hodgkin-Lymphom (NHL) mit erworbener Venetoclaxresistenz auf genetischer, epigenetischer, sowie auf Proteinebene, lieferte Hinweise darauf, dass die erworbene Resistenz gegen Venetoclax hauptsächlich durch eine Herunterregulierung von BAX und PUMA sowie eine Hochregulierung von MCL1 vermittelt wird. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen zum ersten Mal, dass die Resistenz gegen Venetoclax durch Methylierung vermittelt werden kann. Mittels Pyrosequenzierung waren wir in der Lage einen regulatorischen CpG-Bereich innerhalb des *PUMA* Promoters zu identifizieren. Die Methylierung dieses Bereiches führt zu einer verringerten *PUMA* Expression sowohl auf Transkript- als auch auf Proteinebene. Die epigenetische Regulation von PUMA konnte sowohl in Zelllinien als auch in CLL-Patientenprobe nachgewiesen werden. Interessanterweise kann diese Methylierung durch Behandlung mit der demethylierenden Substanz 5'-AZA rückgängig gemacht werden. In dessen Folge es zu einer Reexpression von PUMA und zur Wiederherstellung des Ansprechens der Zellen auf Venetoclax kommt. Darüber hinaus konnte in CRISPR/Cas9 *PUMA* KO-Zelllinien gezeigt werden, dass der Verlust von PUMA zu einer metabolischen Umprogrammierung mit höherer oxidativer Phosphorylierungsrate (OXPHOS) und ATP Produktion führt. Während der Verlust der Expression von *PUMA* spezifisch für die erworbene Resistenz gegenüber Venetoclax war und bei der Resistenz gegen MCL1 Inhibitoren keine Rolle zu spielen scheint, war der Verlust von *BAX* ein kritischer Schritt für die Sensitivität sowohl gegen BCL2 als auch gegen MCL1 Inhibitoren. Eine Testung unterschiedlicher Einzelsubstanzen in *BAX*-defizienten Zellen identifizierte den extrinsischen Apoptoseweg als vielversprechendsten Ansatzpunkt zur pharmakologischen Überwindung einer erworbenen Venetoclaxresistenz. Diese Verbindung zur extrinsischen Apoptose konnte *in vitro* durch den Einsatz von humanen Anti-CD19-CAR-T-Zellen bestätigt werden. Zusammenfassend konnte im Rahmen dieser Arbeit das Wissen über Mechanismen der erworbenen Venetoclaxresistenz verifiziert und erweitert sowie Behandlungsoptionen für Patienten identifiziert werden.