

Abstract

The present work examines the mode of action of macroalgae extracts on cancer cells, especially pancreatic cancer cells. Pancreatic cancer is one of the most aggressive cancer species, with a 5-year survival rate below 5%. Massive research during the last decades did not significantly improve its dismal prognosis and death rates. Important risk factors for developing cancer are smoking, excessive alcohol consumption, high calorie and fat intake, but also genetic factors. Comparing different cultures in terms of their cancer statistics, Japan and especially the region Okinawa island stand out. The population of Okinawa island seems to be rather healthy and long-living and cancer rates are low. Okinawa islander prefer a low calorie diet with a relatively high intake of vegetables, soy, sweet potatoes, fish and marine algae in various forms. Among other things, this observation leads to the assumption that marine algae contain compounds which are beneficial for health and possibly may also counteract cancer. Although marine organisms are not well studied they represent a source for new pharmacological active substances. Especially secondary plant metabolites derived from marine algae are of specific research interest. These compounds are produced by algae for survival under adverse conditions of an marine environment. Algae synthesize those substances to adapt to the salinity or to avoid predatory herbivores.

In the present work, two different extracts of Baltic Brown Seaweed are described. KF1 is an acetonetic *Fucus vesiculosus* extract with a strong antiproliferative effect against cancer cells. Most likely, it contains two similar marine polyphenols exhibiting a phlorotannin structure. This extract inhibited the cell cycle of proliferating cells due to the upregulation of cell cycle inhibitors, shown on the mRNA (microarray data) and protein level. As a result, cells were dying caspase-independently. Experiments with growth arrested cells showed that proliferation is a prerequisite for the effectiveness of KF1 and non-proliferating cells were not affected by KF1. Only, when proliferating again, cells died.

For the characterisation of KF1 activity, its effect was compared with the known chemotherapeutic drug gemcitabine. Both substances affected the cell cycle and induced cell death. Whereas KF1 was effective directly after the application, gemcitabine initially induced enhanced proliferation when applied in lower doses. Interestingly, KF1 showed additive killing effects when combined with different chemotherapeutic drugs.

The second extract is a highly purified fucoidan derived from the Brown Seaweed *Saccharina latissima* (A09-S.l. F3). This extract showed no apoptotic but an anti-migratory activity, as observed in two different test systems. The first system simulated the migration of cells in traumatic lesions. A09-S.l. F3 inhibited this “wound healing” effect. The second experiment represented the ability of cancer cells to infiltrate blood vessels and other barriers. A09-S.l. F3 was also anti-migratory in this system.

In conclusion, both characterized algae extracts exhibited anti-cancer activities in cell culture experiments. Current in vitro data are promising and should be verified in adequate in vivo models (e.g., rodents) in terms of bioavailability, bioactivity and toxicity of the algae extracts. Algae extracts KF1 and A09-S.l. F3, described within this work, may offer new options for pancreatic cancer treatment and warrant further investigations.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit behandelt die Wirkungen von Makroalgenextrakten auf Krebszellen und im Speziellen auf Pankreaskrebszellen. Pankreaskrebs zählt mit einer 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von unter 5% zu den aggressivsten Tumorerkrankungen. Trotz massiver Forschungsanstrengungen in den letzten Jahren ist die Todesrate fast so hoch wie die Erkrankungsrate. Zu den Ursachen für die Entstehung des Krebses zählen vor allem Lebensstilfaktoren wie Rauchen und übermäßiger Alkoholkonsum, eine kalorien- und fettreiche Ernährung, aber auch genetische Veranlagungen. Vergleicht man die Krebsinzidenzen verschiedener Völker miteinander, so fällt die japanischen Region von Okinawa besonders auf. Die Bevölkerung der Insel Okinawa scheint besonders gesund und langlebig zu sein, die Zahl der Krebserkrankungen ist eher niedrig. Die Bewohner der Insel Okinawa bevorzugen eine relativ kalorienarme Ernährung, mit hohen Anteilen von Süßkartoffeln, Sojaprodukten, Gemüse, Fisch Meeresalgen in unterschiedlichen Formen. Unter anderem dies führt zu der Annahme, dass Meeresalgen Stoffe enthalten, die gesundheitsförderlich sind und potentiell gegen Krebs eingesetzt werden können. Hinzu kommt, dass Meeresalgen bislang sehr wenig erforscht sind und somit eine hervorragende Quelle für neue pharmakologisch aktive Substanzen darstellen können. Besonders interessant für die Forschung sind von Meeresalgen gebildete, sekundäre Pflanzenstoffe. Diese Stoffe werden von Algen gebildet, um mit den sehr widrigen Bedingungen im Meer zurechtzukommen. Unter anderem dadurch können sich Algen an den vorherrschenden Salzgehalt anpassen und sich gegen Fressfeinde schützen.

In der vorliegenden Arbeit werden zwei verschiedene Extrakte von heimischen Braunalgen beschrieben. KF1 ist ein acetonischer *Fucus vesiculosus* Extrakt mit einer Er zeigt eine starken antiproliferativen Wirkung gegen Krebszellen. Er enthält höchstwahrscheinlich zwei sehr ähnliche Polyphenole die zu den Phlorotanninen gezählt werden. Dieser Extrakt inhibierte in proliferierenden Zellen den Zellzyklus. Sowohl auf mRNA- (Mikroarrays), als auch auf Proteinebene konnte nachgewiesen werden, dass KF1 Zellzyklusinhibitoren hoch reguliert. Infolgedessen sterben die Zellen caspaseunabhängig. Dass der Zellzyklus eine entscheidende Rolle bei der Wirkung von KF1 spielt, zeigen Experimente mit nicht proliferierenden Zellen. Bei diesen Zellen wird durch KF1 kein Zelltod ausgelöst. Erst wenn sie wieder proliferieren, wird ihr Tod induziert.

Um die Wirkung von KF1 einordnen zu können, wurde KF1 mit dem gängigen Chemotherapeutikum Gemcitabin verglichen. Beide Substanzen wirken auf den Zellzyklus ein. Allerdings induziert Gemcitabin in niedrigen Konzentrationen zunächst eine verstärkte Proliferation. KF1 dagegen wirkt sofort nach der Applikation antiproliferativ. In Kombinationsexperimenten mit unterschiedlichen Chemotherapeutika zeigt KF1 immer additive antitumorale Effekte.

Bei dem zweiten Extrakt handelt es sich um hoch aufgereinigtes Fucoidan aus dem braunen Seetang *Saccharina latissima* (A09-S.l. F3). Dieser wirkt nicht apoptotisch, sondern hat antimetastatische Effekte in zwei verschiedenen Testsystemen. Beim ersten Testsystem wird das Einwandern von Krebszellen in eine Wunde simuliert und von A09-S.l. F3 inhibiert. Beim zweiten Testsystem wird die Fähigkeit von Krebszellen abgebildet, in Blutgefäße einzudringen und sich in einem Organismus zu bewegen. Auch hier wirkt A09-S.l. F3 antimigratorisch.

Zusammengefasst können beide Algenextrakte antikanzerogene Wirkungen in Zellkulturexperimenten aufweisen. Die vorliegenden in vitro Daten sind vielversprechend und sollten in geeigneten in vivo Modellen (z.B. Mäuse) in Bezug auf Bioverfügbarkeit, Bioaktivität und Toxizität überprüft werden. Die in dieser Arbeit beschriebenen Algenextrakte KF1 und A09-S.l. F3 könnten neue Möglichkeiten für die Therapie des Pankreaskarzinoms darstellen, die einer weiteren Untersuchung bedürfen.