

Christian Keller
Dr. med.

Zentrosomale Aberrationen beim Morbus Hodgkin

Geboren am 19.09.1976 in Heidelberg
Staatsexamen am 07.12.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. A. Krämer

Der Morbus Hodgkin (Lymphogranulomatose) ist eine in den Lymphknoten entstehende Krebserkrankung, die auf eine Transformation von B-Lymphozyten zurückzuführen ist. Histologisches Merkmal des Hodgkin-Lymphoms sind die mehrkernigen Reed-Sternberg-Zellen, die aus einkernigen Hodgkin-Zellen entstehen. Unbehandelt verläuft die Erkrankung tödlich, sie ist heute jedoch durch Strahlentherapie und Polychemotherapie häufig heilbar.

Genetische Instabilität ist ein klassisches Merkmal beim Hodgkin-Lymphom. Es ist charakterisiert durch Chromosomenzahlen im hyperdiploiden Bereich und ein ausgeprägt heterogenes Muster karyotypischer Veränderungen. Die Erkrankung kennzeichnende typische chromosomale Anomalien konnten bis heute allerdings nicht gefunden werden.

Als mögliche Ursache chromosomaler Instabilität wurden die Spindelpolkkörperchen (Zentrosomen) Gegenstand zahlreicher Studien. Zentrosomen spielen in der Zellzyklusregulation eine zentrale Rolle. Da ihnen die Organisation der Mikrotubuli während der Zellteilung zukommt, tragen sie wesentlich zur Ausbildung der bipolaren Teilungsspindel während der Chromosomenverteilung bei. Wenn die Abstimmung zwischen Zentrosomen-Duplikation und DNA-Replikation fehlschlägt, führt dies zur Zentrosomenamplifikation mit konsekutiver Bildung mono- oder multipolarer Spindeln und folglich zur Fehlverteilung von Chromosomen und Aneuploidie. Insofern werden Fehlregulationen im Zentrosomenzyklus seit langem als mögliche Ursache chromosomaler Instabilität angesehen.

Aus Zellkulturen der sieben Hodgkin-Zelllinien L 428, L 591, L 1236, KM-H2, L 540, HDLM-2 und HD-MYZ wurden Zellen gewonnen. Zentrosomenaberrationen wurden durch Immunfluoreszenz mit Hilfe von Antikörpern zur Darstellung gebracht. Ein monoklonaler Anti-Gamma-Tubulin-Antikörper kam dabei als Primärantikörper zur Anwendung. Als Sekundärantikörper wurde ein Indocarbocyanin konjugierter Ziegenantikörper verwendet.

Vorkommen und Erscheinungsbild von numerischen und strukturellen zentrosomalen Veränderungen wurden durch Auszählen von jeweils über 400 Zellen untersucht. Zur Weiterentwicklung der Auswertung wurde darüber hinaus eine neue Methode etabliert. Diese basiert auf der Anwendung eines Computerprogramms, welches Zellen in Bildfeldern analysiert und in der Lage ist, Zellkernflächen, zentrosomale Flächen und die Anzahl von Zentrosomen in einer Zelle zu berechnen. Diese Parameter wurden für jeweils über 200 Zellen erhoben und ausgewertet. Die computergestützte Methode erlaubt die Auswertung zentrosomaler Veränderungen auf einem hohen standardisierten Niveau.

Die Auswertung von Metaphasen der sieben Hodgkin-Zelllinien zeigte hyperdiploide, triploide und auch tetraploide Chromosomensätze sowie eine hochgradige Heterogenität der Chromosomenzahlen. Dabei bestanden signifikante Unterschiede zwischen den Zelllinien. Die Berechnung der Schwankungsbreite der Chromosomenzahlen in den Karyogrammen verdeutlichte, dass eine Zelllinie trotz eines tetraploiden Chromosomensatzes als genetisch stabiler angesehen werden kann als eine Zelllinie mit einer vergleichsweise geringeren Abweichung zum diploiden Chromosomensatz wie im Falle hyperdiploider Zelllinien.

Numerische Zentrosomenaberrationen überwogen gegenüber strukturellen Aberrationen deutlich. Dieses Verhältnis stellt sich bei vielen hämatologischen Neoplasien umgekehrt dar. Polyploidisierung kann eine mögliche Ursache für die Vermehrung von Zentrosomen sein. Anders als in der Literatur beschrieben treten numerische Zentrosomenaberrationen allerdings nicht nur bei mehrkernigen Reed-Sternberg-Zellen auf, sondern sind dieser Arbeit zufolge ebenso Merkmal einkerniger Hodgkin-Zellen. Die Tatsache, dass die nahezu diploide Hodgkin-Zelllinie L 591 die meisten Zentrosomenaberrationen aufweist, spricht dafür, dass Polyploidisierung sicher nicht den einzigen Mechanismus in der Entstehung zentrosomaler Veränderungen darstellt.

Möglicherweise vereinigt die Zelle überzählige Zentrosomen zu zwei großen Aggregaten, welche die Ausbildung einer bipolaren Teilungsspindel ermöglichen und das Überleben der Zelle sicherstellen. Die ausgeprägten numerischen Zentrosomenaberrationen stellen andererseits für die Hodgkin-Zellen möglicherweise eine Voraussetzung dafür dar, durch multipolare Zellteilung die ihnen eigene genetische Instabilität zu bewahren. Numerische Zentrosomenaberrationen können dementsprechend gleichermaßen als Ursache und als Folge von Polyploidisierung und Aneuploidie betrachtet werden.

Auch in der Frage nach einem Zusammenhang zwischen Zentrosomenaberrationen und chromosomaler Instabilität spielt dies eine wichtige Rolle. Es konnte in der vorliegenden Arbeit keine derartige Korrelation beschrieben werden, es ergab sich allerdings ein schwacher positiver Zusammenhang zwischen der Größe der zentrosomalen Flächen und der Größe der entsprechenden Kernflächen. Bei hämatologischen Erkrankungen sind Korrelationen zu zytogenetischen Daten bisher insbesondere für strukturelle Zentrosomenaberrationen beschrieben worden. Diese finden sich beim Morbus Hodgkin dieser Arbeit zufolge jedoch viel seltener als numerische Zentrosomenaberrationen. Die Etablierung der computerbasierten Methode in dieser Arbeit stellt diesbezüglich eine Weiterentwicklung der Auswertung von zentrosomalen Veränderungen in standardisierter Form dar.