

Tobias Rupprecht
Dr. med.

Erhöhte DNA-Strangbruchrate in makroskopisch gesunder Larynx-Schleimhaut von Patienten mit Tumoren im oberen Aerodigestivtrakt

Geboren am 26.07.1973 in München
Reifeprüfung am 13.06.1992 in Bonn
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1993/1994 bis WS 1999/2000
Physikum am 07.09.1995 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg und Boston (Harvard Medical School)
Staatsexamen am 25.05.2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)
Doktorvater: Prof. Dr. H. Bartsch

Tumoren des oberen Aerodigestivtraktes sind in besonderer Weise mit Lifestyle-Faktoren assoziiert: Tabak und Alkoholkonsum sind an der Entwicklung von 90% aller Malignome im Kopf-Hals-Bereich beteiligt. Da die digestiv und inhalativ aufgenommenen Karzinogene auf die Schleimhaut des oberen Aerodigestivtraktes in vergleichbarer Weise einwirken, wird von dem Vorgang der "Feld-Kanzerisierung" gesprochen. So können an mehreren Stellen verschiedene Stadien der Onkogenese beobachtet werden, welche zum Teil noch keine makroskopischen Auffälligkeiten bieten. Mit mikroskopischen und molekularbiologischen Methoden sind dagegen bereits verschiedentlich Veränderungen in unauffälligen Schleimhautbezirken im Sinne von Präkanzerosen insbesondere bei Patienten mit multifokalen Tumoren nachgewiesen worden. Doch nicht alle Individuen, die mutagenen Substanzen ausgesetzt sind, entwickeln mono- oder gar multifokale Tumoren. Die Identifizierung von Risiko-Patienten mit einer erhöhten Instabilität des Genoms oder verminderter Reparaturkapazität und somit Neigung zur Entwicklung von Tumoren nach Einwirkung exogener mutagener Substanzen, wie sie beispielsweise durch Tabakkonsum erfolgt, wäre daher wünschenswert. Zu dieser Fragestellung wurde makroskopisch unauffällige Larynx-Schleimhaut in entsprechendem Abstand vom Tumor auf eine erhöhte basale Strangbruchrate sowie erhöhte Sensibilität gegenüber kanzerogenen Substanzen mittels Mikrogelelektrophorese untersucht und mit Kontrollpatienten verglichen. Dazu wurden Epithel-Zellen aus der Schleimhaut enzymatisch isoliert, anschließend mit verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen für eine Stunde inkubiert und nach Durchführung der Mikrogelelektrophorese die mit der DNA-Strangbruchrate korrelierende Wanderungsstrecke im elektrischen Feld ausgemessen.

Hier zeigte sich eine signifikant erhöhte basale DNA-Schadensrate. Die DNA-Migrationslänge der unbehandelten Zellen (Lösemittelkontrolle) von Tumor-Patienten (n=29) lag bei $63\mu\text{m}\pm 18$ gegenüber $47\mu\text{m}\pm 16$ in der Kontrollgruppe (n=22) ($p<0,05$). Die Anzahl ungeschädigter Zellen in der Lösemittelkontrolle war mit $27\%\pm 20$ bei den Tumor-Patienten deutlich niedriger als in der Vergleichsgruppe ($45\%\pm 25$, $p<0,01$). Diese Werte waren von möglichen Confoundern wie beispielsweise Tabak- oder Alkoholkonsum sowie weiteren potentiellen und bekannten Kanzerogenen bereinigt - die Differenz der Leerkontrollwerte muß somit den endogenen Aspekt des Individuums repräsentieren. Die Feld-Kanzerisierung könnte als Auslöser interpretiert werden, welche als Rahmenbedingung eine entsprechende Suszeptibilität (z. B. einen endogenen DNA-Reparaturdefekt) benötigt. Dies steht im Einklang mit verschiedenen Studien, welche ein erhöhtes Karzinom-Risiko bei positiver Familienanamnese oder bestimmten genetischen Auffälligkeiten zeigen konnten. Ebenso

wurde bereits eine erhöhte Kanzerogensensitivität in Lymphozyten von Patienten mit oberem Aerodigestivtrakt-Tumoren als Hinweis auf eine mögliche systemische Ursache gefunden. Es könnte sich andererseits bei den Gewebeproben mit erhöhter basaler Strangbruchrate auch um makro- und unter Umständen mikroskopisch unauffällige Präkanzerosen handeln (s. o.).

Ein signifikanter Zusammenhang der MGE-Ergebnisse mit Lifestyle- oder Ernährungsfaktoren sowie Schadstoffbelastungen am Arbeitsplatz konnte nicht nachgewiesen werden. Lediglich ein gesteigerter Obstkonsum wirkte sich auf die Migrationslänge ($p < 0,05$), nicht aber auf die Anzahl ungeschädigter Zellen aus. Ein Unterschied in der mutagenen Wirkung verschiedener N-Nitroso-Verbindungen konnte ebenfalls nicht gefunden werden.

Blutproben sind eher verfügbar als Zielgewebe, welches nur im Rahmen eines operativen Eingriffes entnommen werden kann. Daher wurde von zehn Patienten neben Larynx-Gewebe auch die Reparaturkapazität peripherer Lymphozyten untersucht. Nach Stimulation mit PHG (Zellen in S-Phase) sowie dreißigminütiger Inkubation mit Bleomycin ($20\mu\text{g/ml}$) wurde die Reparaturkinetik bestimmt. Die manuelle Längenausmessung der Kometen ergab erhöhte Werte bei Patienten mit Tumoren des oberen Aerodigestivtraktes, vergleichbar mit den Ergebnissen der Larynxschleimhautproben ($67,7\mu\text{m} \pm 25,1$ gegenüber $45,4\mu\text{m} \pm 4,3$ in der Vergleichsgruppe). Bei Bestimmung des tail-moment (TM) dagegen zeigte sich eine verringerte Reparaturkapazität: Nach 15 Minuten hatten $68,9\% \pm 22,5$ der Zellen von Kontroll-Patienten den durch Bleomycin gesetzten Schaden repariert; in der Gruppe der Tumor-Patienten schafften dies nur $44,7\% \pm 29,8$. Aufgrund der geringen Fallzahl war eine statistische Auswertung der Reparaturkapazitätswerte nicht sinnvoll, und somit kann nur deskriptiv verfahren werden. Die Ergebnisse sind vergleichbar mit denen einer anderen Studie in unserer Arbeitsgruppe und unterstützen den endogenen Aspekt: Die DNA-Reparaturkapazität in Lymphozyten von Patienten mit Malignomen der Lunge ist signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe. So kann man zu dem Schluß kommen, daß Patienten mit einer verminderten DNA-Reparaturkapazität, welche sich sowohl im Zielgewebe wie auch in peripheren Lymphozyten zeigt, eher zur Ausbildung eines Malignoms im oberen Aerodigestivtrakt neigen.