

Leonille Schweizer  
Dr. med.

## **Über die Wirkung von 2- und 3-Hydroxyglutarat auf das Verhalten von Gliomzelllinien in Kultur: Untersuchungen zu Migration, Proliferation und Klonalität**

Promotionsfach: Pathologie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Andreas von Deimling

Im Rahmen des Cancer Genome Atlas Research Network (TCGA) Projektes wurde 2008 in 12% aller Gliome eine bisher unbekannte Mutation in der Isocitrat-Dehydrogenase 1 (*IDH1*), einem Schlüsselenzym des Zellstoffwechsel, entdeckt. Bei detaillierteren Untersuchungen konnte die *IDH1* Mutation in bis zu 80% aller Gliome WHO Grad II-III sowie sekundären Glioblastome festgestellt werden, ebenso vereinzelte Mutationen der *IDH2*. Auf diese Entdeckung folgten in den vergangenen drei Jahren zahlreiche wissenschaftliche Veröffentlichungen, die zu einer grundlegenden Veränderung des Verständnisses der Ätiologie und des Tumorverhaltens sowie der Klassifikation und Diagnostik glialer Tumore führten. Die stets heterozygote Mutation machte sich nicht nur in einen Funktionsverlust der *IDH* bei der Verstoffwechslung von Isocitrat zu  $\alpha$ -KG bemerkbar, sondern darüber hinaus auch in einem katalytischen Funktionsgewinn, der zur Produktion von 2-Hydroxyglutarat (2HG) aus  $\alpha$ -KG und zu dessen Akkumulation im Tumorgewebe und in Zellkulturen führte. Der Wirkung von 2HG auf Zellen wurde in den bisher veröffentlichten Arbeiten nicht abschließend geklärt. Daher wurde in dieser Arbeit der Versuch unternommen, den Einfluss von 2HG auf verschiedene elementare Zellfunktionen zu untersuchen. In anfänglichen Konzentrationsbestimmungen konnte neben einer erhöhten 2HG Konzentration auch eine Steigerung der 3HG Konzentration im Medium von Zellen festgestellt werden und deshalb in die Betrachtungen mit eingeschlossen.

Erstmalig konnte in dieser Arbeit beschrieben werden, dass es bei steigenden 2HG Konzentrationen im Medium und Zellpellet zellunabhängig zu einer konkordanten Erhöhung der 3HG Konzentration kommt. Die Erhöhung der 3HG Konzentration tritt dabei stets in einem konstanten linearen Verhältnis zur 2HG Konzentration auf. Zudem konnte festgestellt werden, dass 2HG und 3HG nicht nur, wie bisher beschrieben, identische zelluläre Effektorstrukturen tangieren, sondern darüber hinaus auch eine ähnliche Wirkung auf verschiedene Zellfunktionen haben.

Wenn sich auch bezüglich der Migration kein konzentrationsabhängiger, konstanter Einfluss von 2HG und 3HG auf Zelllinien unterschiedlichen Malignitätsgrades feststellen ließ, so konnte doch im Rahmen der Proliferationsuntersuchungen sowohl für 2HG als auch für 3HG eine signifikante Steigerung der klonalen Proliferation maligner Zellen beobachtet werden. Hier zeigte sich vor allem auch eine deutliche Steigerung der Tumorigenität im Soft Agar Assay anhand der Koloniezahl und Koloniegröße sowohl durch 2HG als auch durch 3HG. Bei der Steigerung der Proliferation scheint zudem die Konfluenz der Zellen eine entscheidende Rolle zu spielen.

Zudem konnte der Bereich, in dem sich die zytotoxische Potenz von 2HG bemerkbar macht, näher eingegrenzt werden, und erste Hinweise gesammelt werden, dass sich die Produktion von 2HG und 3HG, die als eine kaum wiederverwertbare Kohlenstoffquelle eine energetische Sackgasse für die Zelle darstellen, auch auf die Integrität der zellulären Energieproduktion auswirken könnte, so auf die Bereitstellung des universalen Energieträgers ATP in Abhängigkeit von der externen Wachstumsstimulation.

Die Ergebnisse geben Hinweise darauf, dass der Zellstoffwechsel nicht nur eine entscheidende Rolle in der Regulation basaler Zellaktivitäten, wie Migration und Proliferation, spielen könnte, sondern dass die Umstellung des Zellstoffwechsels bei Tumorzellen nicht nur die Folge einer Störung intrazellulärer Signalwege sein könnte, sondern vielmehr die Ursache der malignen Entartung von Zellen.