

Michael Bujard  
Dr. med.

## **Muster chromosomaler Gewinne und Verluste in Adeno- und Plattenepithelkarzinomen der Lunge**

Geboren am 28.09.1966 in Dallas, USA  
Reifeprüfung am 05.06.1986 in Heidelberg  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1988 bis SS 1996  
Physikum am 20.03.1991 an der Universität des Saarlandes  
Klinisches Studium an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg  
Praktisches Jahr in Toronto, Kanada; New York USA; Heidelberg  
Staatsexamen am 07.11.1996 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Humangenetik  
Doktormutter: Priv.-Doz. Dr. sc. hum. A. Jauch

Malignen Erkrankungen gehören zu den häufigsten Todesursachen in westlichen Industrieländern. Innerhalb dieser Gruppe nehmen die Lungenkarzinome eine führende Stellung ein. Die Häufigkeit der Lungenkarzinome korreliert direkt mit dem Zigarettenkonsum.

Man unterscheidet zwei große Gruppen der Lungenkarzinome, die kleinzelligen ( SCLC = Small Cell Lung Cancer ) und die nicht kleinzellige ( NSCLC = Non Small Cell Lung Cancer ). Die kleinzelligen Lungenkarzinome sind aggressiv wachsend Tumoren, die sich häufig durch eine neuroendokrine Aktivität auszeichnen.

Die nichtkleinzelligen Lungenkarzinome umfassen vier histologische Gruppen: Plattenepithelkarzinome, Adenokarzinome, Großzellkarzinome und die undifferenzierten Karzinome. Adeno- und Plattenepithelkarzinome stellen einen Anteil von insgesamt 70% aller Lungentumore dar.

In der vorliegenden Arbeit sollten spezifische Muster chromosomaler Veränderungen für Plattenepithel- und Adenokarzinome mittels vergleichender genomischer Hybridisierung kartiert werden.

Um die diagnostische Vielfalt dieser Methode zu beschreiben, wurden zuvor zwei weitere Fragestellungen bearbeitet. Es wurden genetische Imbalancen eines Nierenzellkarzinoms eines Patienten mit von Hippel Lindau-Syndrom durch CGH kartiert.

Des Weiteren wurden DNA-Amplifikationen einer Astrozytom-Zelllinie mit CGH identifiziert und mit FISH charakterisiert.

Die histopathologischen Untersuchungsmethoden in einem frühen Tumorstadium ein Nierenzelladenom von einem Karzinom zu unterscheiden, sind sehr aufwändig und führen zu keiner sicheren Diagnose. Auch die Sequenzierung der betroffenen chromosomalen Abschnitte ist eine aufwändiges zytogenetisches Verfahren und bedarf der vorherigen Kenntnis des Gendefekts in diesem Fall 3p25.

Der Vergleich, der zu diesem Fall angewandten Methoden unterstreicht die Validität der Methode dadurch, dass die Ergebnisse kohärent sind. Zu dem verdeutlicht der methodische Vergleich die relativ einfache Durchführung der CGH und den nicht minderen diagnostischen Wert dieses Verfahrens.

In der Untersuchung der Glioblastom-Zelllinie sind die Grenzen der herkömmlichen zytogenetischen Verfahren leicht zu erkennen. Die abgebildeten Metaphasen der Zellkultur verdeutlichen, welche ein chromosomales Chaos in einer solchen Zelle herrscht. Hier sind die

Grenzen der herkömmlichen Bänderungsanalysen, diese genetischen Materialgewinne zu identifizieren, offenkundig. Abgesehen von verfahrenstechnischen Schwierigkeiten, die das Anlegen einer Zellkultur aus solchen Tumoren mit sich bringt. Die Tatsache, dass für CGH lediglich DNA aus einem Tumor isoliert werden muss und Metaphasen und Kontroll-DNA von gesunden Spendern in unkomplizierten Standardverfahren gewonnen wird, macht diese Methode deutlich weniger störanfällig. Insgesamt ist das Verfahren dadurch auch deutlich schneller, als die meisten herkömmlichen Methoden.

Zur Überprüfung der durch CGH ermittelten Ergebnisse, dass die dmin genetisches Material des Chromosom 9 enthalten, wurde eine Art Umkehrprobe gemacht. Dabei wurde eine für das Chromosom 9 spezifische Probe auf eine Tumormetaphase mittels FISH hybridisiert. Dabei hybridisierte sich die Probe nicht nur auf die entsprechenden Chromosomen, sondern auch auf die zahlreichen dmin.

Die klinische Bedeutung der Lungekarzinome ist in den westlichen Industrieländer enorm. Eine genetische Unterscheidung anhand charakteristischer chromosomaler Imbalancen scheint erstrebenswert, da eine eindeutige Zuordnung durch die Histopathologie nicht immer gegeben ist. Zumal möglicherweise spezifische Therapien entwickelt werden, wofür die genaue Kenntnis der Tumoren inklusive ihrer genetischen Unterschiede eine wichtige Grundlage darstellt.

In den je 25 Fällen, die mit CGH untersucht wurden, fanden sich signifikante Unterschiede.

In den Adenokarzinomen der Lunge, wie auch in Adenokarzinomen anderer Organstrukturen, der Prostata, des Kolons und der Brust wurde eine Überrepräsentation auf 1q23 gefunden. Wie oben genau beschrieben wurden auch einige, für Adenokarzinome spezifische Verluste identifiziert. Sechs gemeinsame chromosomale Amplifikationen konnten lokalisiert werden. Drei dieser Regionen enthalten die bekannten Onkogene c-myc, erB2 und cycD1.

Die Plattenepithelkarzinome wiesen signifikant am häufigsten eine Amplifikation 3q und 12p13 auf. Das gemeinsame Auftreten dieser beiden Amplifikationen lässt die Diagnose eines Plattenepithelkarzinoms zu.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass CGH in den unterschiedliche Fragestellungen seine diagnostische Qualität beweisen konnte.

Darüber hinaus ist nicht nur eine Kartierung der unterschiedlichen Lungenkarzinome gelungen, sondern auch ein Muster genetischer Veränderungen gefunden worden, anhand dessen eine Unterscheidung der beiden Histologien möglich ist. Somit hat die CGH in der Diagnostik der soliden Tumoren einen festen Platz verdient und hat sich darüber hinaus zu einer viel eingesetzten Methode zur Diagnostik humangenetischer Erkrankungen entwickelt.