

Ezgi Baysal
Dr. med.

Tumorkachexie und das Herz- Die tumorinduzierte Plastizität von Kardiomyozyten in der Zellkultur

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Dr. med. J. Backs

Die Tumorkachexie ist ein schweres Krankheitsbild, das sich im Endstadium von Tumorerkrankungen manifestiert und mit einer schlechten Prognose hinsichtlich ihres Krankheitsverlaufes einhergeht. Es handelt sich hierbei um ein komplexes Stoffwechselsyndrom mit inflammatorischer und endokriner Komponente, welches einen irreversiblen Verlust von Fett- und Skelettmuskelmasse zur Folge hat.

Gegenstand dieser Arbeit war die Untersuchung der Tumorkachexie hinsichtlich ihrer Auswirkung auf die Herzmuskulatur. Tierexperimentell konnte bereits durch die Applikation von Tumorzellen eine kardiale Atrophie mit konsekutiver Verschlechterung der Herzfunktion induziert werden. Diese Ergebnisse sollten direkt auf die Zellkulturebene transferiert werden um morphologische Veränderungen in Kardiomyozyten zu erfassen und molekulare Mechanismen unter dem toxischen Einfluss der Tumorzellen aufzudecken. Zu den weiteren Zielsetzungen gehörte die Ausarbeitung von Veränderungen auf Proteinebene sowie die Erstellung von Expressionsprofilen wichtiger fetaler Gene und gängiger Atrophiemarker.

Für den ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurde erstmals ein Co-Kultur-Modell etabliert, das die simultane Kultivierung von Kardiomyozyten und Tumorzellen in einem System trotz räumlicher Separation ermöglichte; gleichzeitig wurde der effiziente Stoffaustausch durch geeignete Membranporen gewährleistet.

Um den Effekt der Tumorzellen auf die Kardiomyozyten zu intensivieren und ihre sezernierten Produkte in konzentrierter Form langfristig und flexibel haltbar zu machen, wurde im zweiten Schritt ein konditioniertes Tumorzellmedium aus unterschiedlichen murinen und humanen Zelllinien hergestellt, welches im Anschluss direkt auf die Kardiomyozyten gegeben wurde.

Mittels fluoreszenzmikroskopischer Techniken wurden die Kardiomyozyten aus dem Co-Kultur-Experiment nach Inkubation mit Colon-26 Tumorzellen im zeitlichen Verlauf hinsichtlich ihrer Größe und Form evaluiert. Die exponierten Kardiomyozyten entwickelten (im Gegensatz zu den Kontrollzellen, die ohne Colon-26 Tumorzellen kultiviert worden waren) eine konzentrationsabhängige Atrophie. Dieses Phänomen konnte bei der Co-Kultur mit HEK293-Zellen (eine Zelllinie ohne tumorigene Eigenschaften) nicht reproduziert werden, so dass hier von tumorspezifischen regulatorischen Mechanismen ausgegangen werden konnte.

Nach der Inkubation mit konditioniertem Medium von Colon-26 Tumorzellen manifestierte sich ebenfalls eine konzentrationsabhängige signifikante Atrophie in Kardiomyozyten, die zusätzlich von

gravierenden zytoarchitektonischen Veränderung begleitet wurde: Diejenigen Zellen, die mit konditioniertem Medium behandelt wurden, nahmen spindelförmig verzerrte Strukturen mit dendritischen Ausläufern an. Konditioniertes Medium von Cos-1 Zellen (ohne tumorigene Eigenschaften), welches hier als Kontrollmedium diente, hatte dagegen keinen Effekt auf die Morphologie der Kardiomyozyten.

In voneinander unabhängigen Experimenten konnte durch den Einsatz konditionierter Medien *humaner* Kolonkarzinom-Zelllinien SW480, HCT116 und Ht-29 ebenfalls die Entwicklung eines konzentrationsabhängigen atrophischen Phänotyps in Kardiomyozyten getriggert werden.

Bei weiteren Untersuchungen mit humanen *Pancreaskarzinom* Zelllinien konnte sowohl die charakteristische Atrophie der Kardiomyozyten reproduziert werden, als auch erstmalig eine *Hypertrophie* induziert werden. Die Applikation des konditionierten Tumorzellmediums scheint also mithilfe von noch unbekanntenen Mechanismen in die physiologischen Regulationsmechanismen von Zellgröße und –form der Kardiomyozyten einzugreifen.

Nach der Entfernung dieses Mediums und einer bestimmten Regenerationszeit waren die Kardiomyozyten imstande, die Folgen dieser Noxe mit zelleigenen Reparaturmechanismen rückgängig zu machen und die ursprüngliche Zytoarchitektur zu rekonstruieren. Die tumorinduzierte Atrophie ist also ein reversibles Phänomen.

Untersuchungen auf RNA-Ebene mittels Real-Time PCR zeigten in atrophischen Kardiomyozyten eine Herunterregulation der fetalen Genexpression und die regulatorische Beteiligung gängiger Atrophiemarker und HDAC4, proportional zur zugesetzten Tumorkonzentration.

Diese Ergebnisse zeigen eindrucksvoll, dass Tumorzellen über die Sekretion eines oder mehrerer noch zu identifizierenden Faktoren direkt mit Kardiomyozyten interagieren und einen morphometrisch fassbaren reversiblen atrophischen Phänotyp induzieren. Die Identifikation des/der verantwortlichen Faktor(en) durch geeignete Verfahren der Sekretomanalyse könnte sich als wichtigen Ansatzpunkte für die Diagnostik und die Therapie der Tumorkachexie erweisen. So könnte der Nachweis dieses Faktors im Serum von Tumorpatienten dazu führen, kausale Therapieformen abzuleiten sofern es gelänge die hier relevanten Zielstrukturen an Kardiomyozyten zu identifizieren. Eine potentielle pharmakologische Einflussnahme wäre für das Patientenkollektiv mit einer kardiologisch engeren Betreuung sowie mit einem prognostisch günstigerem Outcome hinsichtlich des Krankheitsverlaufs verbunden.