

Ilka Jansen

Dr. med.

Generierung und Charakterisierung zyto-genetisch aberranter AML-Zelllinien

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Alwin Krämer

Aneuploidie gilt als Kennzeichen sowohl von soliden als auch hämatologischen Tumoren und geht im Allgemeinen mit einer schlechten Prognose einher. Hierbei sind 90% aller soliden und 75% aller hämatologischen Tumore aneuploid, wohingegen in gesundem Gewebe Aneuploidien nur selten nachgewiesen werden können. In den letzten Jahren wächst daher immer mehr das Interesse, Substanzen zu entwickeln, welche spezifisch auf aneuploide Zellen wirken. Eine dieser Substanzen ist das Purin-Analogon 8-Azaguanin, welches in der vorliegenden Arbeit weiter untersucht wurde.

In einem ersten Schritt erfolgte die Etablierung eines Zellkulturmodells aus der AML-Zelllinie EEB durch Behandlung der Zellen mit den Zellteilungs-Inhibitoren CENP-E und MPS1, Einzelzellaussaat, Anfertigung von Metaphasen-Spreads, Chromosomenauszählung und FISH-Diagnostik. Insgesamt konnte ein Zellkulturmodell etabliert werden, bestehend aus einem euploiden Klon (46,XY), einem hypodiploiden Klon (45,X,-Y), drei hyperdiploiden Klonen (47,XY,+7; 47,XY,+12 und 47,XY,+22) und einem annähernd tetraploiden Zellklon (90,XX,-Y,-Y).

Im Folgenden wurde gezeigt, dass 8-Azaguanin eine aneuploidie-spezifische Wirkung auf die undifferenzierten Zellklone aufweist. Auf zwei der hyperdiploiden, differenzierteren Zellklone war die Wirkung vermindert. Zudem zeigte sich, dass die Wirkung von 8-Azaguanin mit der Zahl der Chromosomenaberrationen zunimmt.

Im nächsten Schritt wurde die Wirkungsweise von 8-Azaguanin untersucht. In Viabilitäts-Untersuchungen mit Nukleosiden konnte gezeigt werden, dass 8-Azaguanin seine Wirkung über die Konkurrenz mit Nukleosiden entfaltet. In Western-Blot Analysen zeigte sich, dass 8-Azaguanin zu DNA-Doppelstrangbrüchen und einem Zellzyklus-Arrest führt. Der Zellzyklusarrest in G₂/M konnte in Zellzyklusanalysen bestätigt werden. Zudem induziert 8-Azaguanin Apoptose, was durch die Analyse mittels durchflusszytometrischer Annexin V/PI-Färbung und im Western-Blot ersichtlich wurde.

8-Azaguanin ist eine aneuploidie-spezifische Substanz, deren Wirksamkeit mit der Stärke der chromosomalen Aberrationen zuzunehmen scheint. Sie führt zu DNA-Schäden und induziert Apoptose. Zudem ist bekannt, dass 8-Azaguanin eine immun-modulatorische Wirkung besitzt. Zusammen mit der aneuploidie-spezifischen Wirkung könnte dies über eine synergistische Wirkweise zu einer verstärkten Wirksamkeit von 8-Azaguanin, v.a. bei Patienten mit einer hohen Anzahl chromosomaler Aberrationen führen und sollte in Zukunft weiter untersucht werden.