

Klaus Werner Forstner

Dr. med.

Untersuchung zur Proliferations – Kinetik von präneoplastischen Läsionen in der Leber von weiblichen Ratten unter dem Einfluss von Dehydroepiandrosteron und N – Nitrosomorpholin

Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

Doktormutter: Prof. Dr. rer. nat. Doris Mayer

Weltweit erkranken jährlich nahezu 1 Million Menschen an Tumoren der Leber. Circa 85% davon betreffen das hepatozelluläre Karzinom. Mit besonders hoher Inzidenz in Teilen Südostasiens und Afrikas zu finden, sind nahezu $\frac{3}{4}$ aller Tumore Folge chronischer Virusinfektionen. Fettstoffwechsel-Störungen sowie Alkohol-Abusus sind weitere Ursachen. Mehr als 80% aller hepatozellulärer Karzinome entstehen auf dem Boden einer Leberzirrhose.

Dehydroepiandrosteron (DHEA) ist das Hauptprodukt der menschlichen Nebenniere und ist eine Zwischenstufe in der Biosynthese von Geschlechtshormonen. Die Substanz besitzt u.a. anti-diabetische, immunmodulierende und gewichtsregulierende Eigenschaften sowie fragile Wirkungen zur Entschleunigung von Altersveränderungen. Es besteht keine Klarheit ob diese Substanz mit einer Karzinogenese-Inhibition oder Promotion einhergeht. Dies ist von besonderer Bedeutung, da diese in vielen Ländern als Nahrungssupplement frei erhältlich ist.

Das Leberparenchym von Nagetieren ist ein bewährtes Modell zum Studium der Hepatokarzinogenese bei chemischer Initiation. Um die Eigenschaften von DHEA bezüglich der Tumorigenese zu untersuchen wird in der vorliegenden Arbeit ein Langzeit-Tierexperiment an weiblichen Sprague-Dawley Ratten ausgewertet, welche in vier Behandlungsgruppen, nämlich eine Kontrolle, eine mit alleiniger DHEA-Gabe, sowie zwei Gruppen mit initialer 7-wöchige Nitrosomorpholin (NNM) – Verabreichung unterschieden werden. Letztere sind durch eine nachfolgende beziehungsweise fehlende DHEA – Behandlung unterschieden. Jede Gruppe umfasst initial dreißig Tiere. Protokollgeführte Entnahmen der Tiere erfolgen in den Nicht-initiierten Gruppen zu sechs Zeitpunkten, in den NNM-behandelten Gruppen zu vier Zeitpunkten unter Berücksichtigung der Überlebenszeit der Tiere.

Entnommene Tiere werden pathologisch untersucht und Kryostat – Schnitte der Leber angefertigt. Diese werden einer Glykogen-sensitiven Perjod-Säure Schiff'sche Basen Reaktion in Verbindung mit einer basophile Zellstrukturen markierenden Toluidinblau Gegenfärbung unterzogen. Diese Präparate dienen der histopathologischen Diagnostik und der Definition von sieben unterscheidbaren präneoplastischen Läsionen neben der Diagnostik hepatozellulärer Tumore. Es werden 5119 präneoplastische Befunde auf einer gesamten Schnittfläche von 4187 [mm²] gefunden und ausgewertet.

Die eingeführten Kenngrößen sind die jeweils spezifischen Läsionsdichten, Läsionszell-dichten, Intraläsionszell-dichten, die Läsionsflächen, sowie die randständigen und einschließenden Nachbarschaftsbeziehungen aller Läsionen und Tumoren. Es werden Größenklassen definiert, in die jede Läsion klassifiziert wird. Für jede Behandlungsgruppe werden die Kenngrößen im Zeitverlauf ausgewertet.

Die Nachbarschaftsbeziehungen werden durch eine Assoziationsanalyse gegen Zufallsverteilungen der Läsionsmuster abgegrenzt. Mit einem neuartigen Verfahren werden spezifische Läsionsverbindungen unter Berücksichtigung der Wahrscheinlichkeit und der Zeitpunkt ihres Auftretens korreliert. Gruppenspezifische hoch-korrelierte Läsionsbindungen offenbaren so Sequenzen des zu erwartenden Auftretens. Die Korrelationen sind unabhängig von den Sequenzen zugrundeliegenden zellulären Wechselwirkungsmechanismen.

Die Erkennungswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von den Schnitt-Läsionsdichten und Größenklassen der Läsionen im Gewebe der Tiere wird untersucht. Zusätzlich wird ein neuartiges Verfahren („UDSM“) entwickelt, welchem ein Modell gleichverteilter und Größenklassen-abhängiger Sphären mit variablen Raumläsionsdichten zugrunde liegt und kompatible räumliche Läsionsverteilungen zu den Schnittbefunden bestimmt. Beide Methoden dienen der Abschätzung der tatsächlichen Läsionsinzidenzen im Gewebe des Leberlappens der Schnittentnahme.

Frühe Läsionen stellen die assoziierte glykogenreiche Gruppe der Läsionen dar, welche aus den dominierenden glykogenspeichernden Herden, den azidophilen- und den intermediären Herden besteht. Die glykogenspeichernden Herde sind eng mit glykogenarmen Herden assoziiert und stehen am Beginn mehrerer Läsionssequenzen. In DHEA – behandelten Tieren werden die Läsionssequenzen charakteristisch moduliert, dies gilt für die Gruppe der nicht-initiierten und noch deutlicher, für die Gruppe der initiierten Tiere. Amphophile Herde mit Mitochondrien- und Peroxisomen - reichen Zellen treten massiv erhöht, zumindest auch, in Sequenz zu den glykogenspeichernden Herden, auf. Diese amphophilen Herde sowie in allen Gruppen, Teile der glykogenreichen Gruppe gehen hoch assoziiert den Spätläsionen, nämlich basophilen Herden und tigroiden Herden voraus. Für erstere, - und eingeschränkt für zweitere -, ist bekannt, dass deren Auftreten eng mit dem nachfolgenden Auftreten von Tumoren korreliert.

In initiierten DHEA behandelten Tieren wird bezüglich der glykogenreichen Gruppe ein verlangsamtetes Läsionswachstum und eine geringere Läsionsneubildung gefunden. Folge ist eine geringere Läsionsdichte und Läsionszellichte sowie kleinere Läsionsabmessungen im Zeitverlauf. Dieser neue Befund gilt in weniger ausgeprägter Form auch für die nicht-initiierten Gruppen.

Unterschiedlich veröffentlichte Tumorinzidenzen unter DHEA – Behandlung werden durch die gefundenen Läsionssequenzen verständlich: Während in DHEA-behandelten Tieren die Inzidenz der Spätläsionen und damit folgender Tumore durch die Sequenz über amphophile Herde erhöht wird, wird im gegenläufigen Sinne die Bildungssequenz der Spätläsionen über die glykogenreiche Gruppe erniedrigt, da sie in geringerer Zell- und Läsionsdichte auftreten.

In dieser Untersuchung finden sich signifikant erhöhte basophile Zelldichten sowie signifikant erhöhte tigroide Zell- und Läsionsdichten. Dies ist ein Hinweis auf eine insgesamt tumorfördernde Wirkung der präsentierten DHEA-Gabe. Die beschränkt vorhandenen Tumorzahlen selbst bedingen jedoch keinen Beleg eines Tumor-promovierenden Effekts.

Obwohl das präsentierte Ergebnis als orientierender Befund bezüglich der Hepatokarzinogenität einer DHEA – Behandlung am Menschen herangezogen werden kann, sind ausgedehnte Fall-Kontrollstudien vor einer weitergehenden Beurteilung der Unbedenklichkeit einer längerfristigen DHEA – Gabe zu empfehlen.