

**Aus der Universitätsklinik für Kinderheilkunde und
Jugendmedizin Tübingen**

Abteilung Kinderchirurgie

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. J. Fuchs

**WISSENSBASIS GENETIK DER BLASTOMATÖSEN
TUMOREN IM KINDESALTER UND DES MORBUS
HIRSCHSPRUNG**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Stefanie Alexandra Bauer**

aus

Tübingen

2004

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Professor Dr. P. Schweizer

2. Berichterstatter: Professor Dr. G. Bruchelt

Für meine Großmutter, meine Mutter und meine Tante

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG	4
<hr/>	
1.1 MECHANISMEN DER TUMORENTSTEHUNG	4
1.2 AUFBAU EINES CHROMOSOMS	7
1.3 AUFBAU EINES GENS	11
1.4 METHODEN DER GENLOKALISATION	14
2 ZIELSETZUNG	19
<hr/>	
3 METHODEN	20
<hr/>	
3.1 ERKRANKUNGEN, DIE IN DER STUDIE BERÜCKSICHTIGT WERDEN	20
3.2 GENETIK	20
3.2.1 CHROMOSOMEN	20
3.2.2 GENE	21
3.2.3 ALLELE	21
3.2.4 EXPRESSIONSPROTEINE	21
3.2.5 VERKNÜPFUNGEN MIT ANDEREN ERKRANKUNGEN UND TUMOREN	21
3.3 ALTER	21
3.4 ZEITRAUM	22
4 ERGEBNISSE	23
<hr/>	
4.1 HEPATOBLASTOM	23
4.1.1 CHROMOSOMEN	23
4.1.2 GENE	27
4.1.3 EXPRESSIONSPROTEINE	31
4.1.4 CHROMOSOMENABERRATIONEN	32
4.1.5 VERKNÜPFUNGEN MIT ANDEREN ERKRANKUNGEN UND TUMOREN	33
4.2 WILMS TUMOR	35
4.2.1 CHROMOSOMEN	35
4.2.2 GENE	36
4.2.3 ALLELE	37
4.2.4 VERKNÜPFUNG MIT ANDEREN ERKRANKUNGEN UND TUMOREN	37
4.3 RETINOBLASTOM	39
4.3.1 CHROMOSOMEN	39
4.3.2 GENE	40
4.3.3 ALLELE	40

4.3.4 EXPRESSIONSPROTEINE	40
4.3.5 VERKNÜPFUNGEN MIT ANDEREN ERKRANKUNGEN UND TUMOREN	41
4.4 NEUROBLASTOM	41
4.4.1 CHROMOSOMEN	42
4.4.2 GENE	43
4.4.3 EXPRESSIONSPROTEINE	43
4.4.4 VERKNÜPFUNG MIT ANDEREN ERKRANKUNGEN UND TUMOREN	44
4.4.5 GENETISCHE SUBTYPEN DES NEUROBLASTOMS	45
4.5 MORBUS HIRSCHSPRUNG	46
4.5.1 CHROMOSOMEN	46
4.5.2 GENE	48
4.5.3 EXPRESSIONSPROTEINE	49
4.5.4 VERKNÜPFUNGEN MIT ANDEREN ERKRANKUNGEN UND TUMOREN	50
4.6 TABELLARISCHE ZUSAMMENFASSUNGEN	53
5 DISKUSSION	62
<hr/>	
5.1 MECHANISMEN DER TUMORENTSTEHUNG, WIE SIE AUS DER LITERATURRECHERCHE ABGELEITET WERDEN KÖNNEN	62
5.1.1 HEPATOBLASTOM	62
5.1.1.1 Chromosomen	62
5.1.1.2 Gene	71
5.1.1.3 Expressionsproteine	79
5.1.1.4 Chromosomenaberrationen	79
5.1.2. WILMS TUMOR	81
5.1.2.1 Chromosomen	81
5.1.2.2 Gene	82
5.1.2.3 Allele	83
5.1.3 RETINOBLASTOM	83
5.1.3.1 Chromosomen	83
5.1.3.2 Gene	84
5.1.3.3 Allele	84
5.1.3.4 Expressionsproteine	85
5.1.4 NEUROBLASTOM	85
5.1.5 MORBUS HIRSCHSPRUNG	89
5.2 QUERVERWEISE ZU ASSOZIIERTEN ERKRANKUNGEN	96
5.2.1 HEPATOBLASTOM	97
5.2.2 WILMS TUMOR	99
5.2.3 RETINOBLASTOM	100
5.2.4 NEUROBLASTOM	100
5.2.5 MORBUS HIRSCHSPRUNG	100
5.3 KLINISCHE RELEVANZ IN PROGNOTISCHER UND THERAPEUTISCHER HINSICHT	105
5.3.1 HEPATOBLASTOM	105
5.3.2 WILMS TUMOR	107
5.3.3 RETINOBLASTOM	108
5.3.4 NEUROBLASTOM	108
5.3.5 MORBUS HIRSCHSPRUNG	109
5.4 TUMORMODELL	109

5.4.1 HEPATOBLASTOM	110
5.4.2 WILMS TUMOR	110
5.4.3 RETINOBLASTOM	111
5.4.4 NEUROBLASTOM	111
5.4.5 MORBUS HIRSCHSPRUNG	111
5.5 METHODENKRITIK	112
6 ZUSAMMENFASSUNG	113
7 LITERATURVERZEICHNIS	115
8 ANHANG	127
8.1 GLOSSARIUM VERWENDETER FACHAUSDRÜCKE	127
8.2 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	139
8.3 GENLOCI FÜR VERSCHIEDENE KRANKHEITEN	142
8.4 DANKSAGUNGEN	147
8.5 LEBENSLAUF	148

1 EINLEITUNG

1.1 Mechanismen der Tumorentstehung

Buselmaier et Tariverdian [15] beschreiben die Mechanismen der Tumorgenese folgendermaßen:

Der menschliche Körper enthält ungefähr 10^{14} Zellen, jede Zelle etwa 65.000-80.000 **Gene**. Die mittlere Mutationsrate pro Gen und Generation liegt bei 10^6 . Daraus wird klar, dass jeder Mensch ein Mosaik für viele genetische Erkrankungen darstellt. Dennoch hat diese Konstitution normalerweise keine Folgen, da eben nur einzelne Zellen betroffen sind. Dies ändert sich jedoch, wenn eine **Mutation** eine Zelle zur pathologischen Proliferation befähigt. Sie erhält dadurch einen Selektionsvorteil, wenn es nicht gelingt, durch höhere Kontrollmechanismen im Gesamtorganismus den entstehenden Zellklon zu bremsen. Wahrscheinlich findet dieser Kampf um Selektionsvorteile in jedem vielzelligen und besonders länger lebenden Organismus ständig statt. Dass wir nicht alle an Krebs sterben, liegt wahrscheinlich nur daran, dass es hoch entwickelte Organismen, wie der Mensch, über viele komplexe und bei weitem noch nicht vollständig erforschte Kontrollmechanismen schaffen, entartete Zellen durch **Apoptose** (= programmierter Zelltod) zu beseitigen.

Es müssten also gleich mehrere Mechanismen in der Zellsteuerung über Mutationen verändert werden, um eine bösartige Proliferation zu ermöglichen. Dies ist jedoch bei der oben erwähnten Mutationsrate bei einer einzigen Zelle rein rechnerisch unmöglich. Die Entstehung von Krebs muss also durch die Kombination mehrerer Mechanismen erfolgen. Dabei werden in der laufenden Diskussion allgemein zwei Wege angenommen:

1. Es gibt einige Mutationstypen, die zur Steigerung der Zellproliferation führen, um eine vergrößerte Zielpopulation von Zellen für weitere Mutationen zu schaffen.

2. Bestimmte Mutationstypen destabilisieren das gesamte Genom und steigern damit die Gesamtmutationsrate.

Drei Gruppen von Genen sind dazu fähig:

1. Onkogene
2. Tumorsuppressorgene
3. Mutatorgene

Onkogene erhöhen die Proliferation.

Solange diese Gene für eine normale Funktion kodieren, also für ein für die Zelle wichtiges Protein, bezeichnet man sie als Protoonkogene. Zu eigentlichen Onkogenen werden sie erst durch eine Mutation, die sie auch autokrin aktiviert. Dabei reicht bereits ein einziges mutiertes Allel.

Tumorsuppressorgene hemmen normalerweise durch ihr Genprodukt die Zellproliferation. Fallen jedoch beide Allele durch eine inaktivierende Mutation aus, geht ihre Funktion verloren.

Mutatorgene haben übergeordnete Funktionen. Sie sorgen für ein geordnetes Zusammenspiel im Gesamtgenom. Ein Ausfall beider Allele eines solchen Gens erhöht die allgemeine Mutabilität, eben auch die von Onkogenen und Tumorsuppressorgenen.

Protoonkogene sind Gene, die beim Zellwachstum und Zellzyklus eine Rolle spielen. Ihre Genprodukte sind Wachstumsfaktoren, Zelloberflächenrezeptoren, Teile des intrazellulären Signaltransfersystems oder Enzyme, die an der Steuerung des Zellzyklus beteiligt sind. Ursprünglich entdeckt und charakterisiert wurden solche Gene bei Viren, die neoplastische Transformationen bewirken können. Zwischenzeitlich wurden auch beim Menschen zelleigene Gene gefunden, die entsprechend den Virusonkogenen als Protoonkogene das Zellwachstum regulieren. Mutationen, die

Protoonkogene zu Onkogenen werden lassen, werden als **Punktmutationen** bezeichnet, die in der kodierenden Sequenz, **Insertionen** außerhalb des Gens und auch **Genamplifikationen** und **Chromosomentranslokationen** bewirken. So sind Punktmutationen beim Dickdarm-, Lungen- und Blasenkrebs der auslösende Faktor.

In vielen Krebszellen findet man multiple Kopien (= identische Vervielfältigung) von Onkogenen, z.B. bei Brustkrebsformen und Neuroblastomen.

Die meisten erblichen Krebserkrankungen entstehen durch Tumorsuppressorgene. Zur Krebsentstehung müssen hier beide **Allele** (= eine oder mehr alternative Formen eines Gens am selben Genlocus) des Tumorsuppressorgens inaktiviert werden. Wird nur ein Allel inaktiviert, so reicht das aktive Allel aus, um den normalen Phänotyp aufrecht zu erhalten. Eine sehr häufige Ursache von Tumorerkrankungen ist der Defekt oder der Verlust des TP53-Gens. Das Genprodukt dieses Gens ist der Transkriptionsfaktor p53, welcher seine Tumorsuppressionswirkung bei Mutation des Gens verliert. Lokalisiert ist dieses Gen auf dem kurzen Arm des Chromosoms 17, präzise auf 17p12.

p53 ist im Interphasezyklus an der Kontrolle zwischen G1- und S-Phase beteiligt. Zellen mit einem DNA-Schaden werden normalerweise in der G1-Phase angehalten, bis der Schaden repariert ist. Ist p53 mutiert oder fehlt es, gehen die Zellen in die S-Phase über und ihre **DNA** wird repliziert. Die nicht reparierten DNA-Schäden können dann zu onkogenen Veränderungen führen. Eine weitere wichtige Funktion scheint p53 bei der Apoptose zu übernehmen. Zellen ohne p53 machen keine Apoptose, was sehr häufig zur Karzinogenese führt. Sowohl Onkogene als auch mutierte Suppressorgene vergrößern Zellpopulationen, an die Folgemutationen ansetzen, indem sie direkt oder indirekt auf den Zellzyklus einwirken.

Mutatorgene sind Gene, die zu Veränderungen in der Replikation oder der Reparatur der DNA führen. So konnten z.B. Mutationen in einem Fehlerkorrektursystem, die zu einer Steigerung um das 100-1.000fache der spontanen Mutationsrate führen, für eine Form des Nichtpolyposis-

Dickdarmkrebses, bei der ein Gen auf 2p15-p22 mutiert ist, nachgewiesen werden. Mutatorgenmutationen sind rezessiv erblich, und es besteht ebenfalls ein Zwei-Treffer-Mechanismus, wobei im Tumor des genannten Beispiels die zweite Kopie des Allels verloren geht.

1.2 Aufbau eines Chromosoms

Buselmaier et Tariverdian [16] definieren den Aufbau der Chromosomen folgendermaßen:

Chromosomen, die aus Chromatin bestehen und in der Kernteilung als faden- oder stäbchenförmige Körper sichtbar werden, sind Träger der Gene.

In den Chromosomen bilden zwei gegenläufige DNA-Moleküle eine Doppelhelix. Das **Chromatin** besteht aus einer spezie-spezifischen Anzahl solcher DNA-Doppelstränge und wird während der Mitose im Lichtmikroskop in verdichteter Form als Chromosom sichtbar. (Abb. 1)

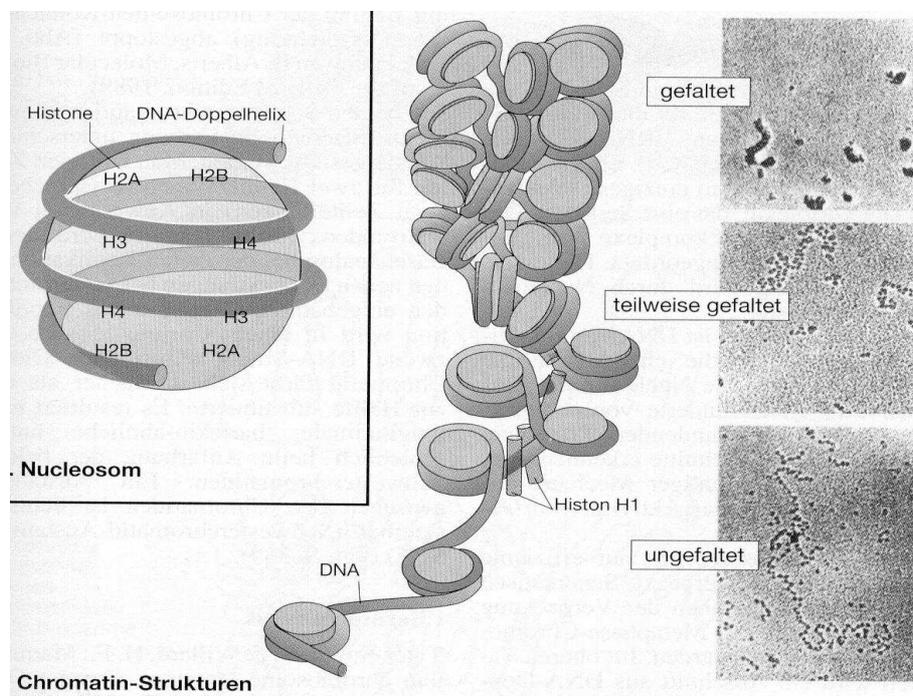


Abbildung 1 Modell eines Chromatinstranges

Einzelne eukaryontische Chromosomen sind im Interphasekern nicht sichtbar. Die DNA-Fäden besitzen einen Durchmesser von 2nm und in ausgezogener Form eine durchschnittliche Länge von 5 cm in einem menschlichen Chromosom. Würde man alle menschlichen Chromosomen aneinanderreihen und messen, so ergäbe dies eine Länge von 2 m.

Isoliert man das Chromatin aus Zellkernen und untersucht es chemisch, so findet man neben DNA (und einer kleineren Menge **RNA**) zwei Hauptklassen von Proteinen:

1. fünf verschiedene Typen von basischen **Histonen** (H1, H2A, H2B, H3 und H4)
2. eine heterogene Gruppe von Nicht-Histonproteinen,

die z.B. eine Anzahl von Enzymen enthält. Die Histone sind für die strukturelle Organisation der Chromosomen offenbar die wichtigere Gruppe von Proteinen. Sie enthalten viele basische Aminosäuren und haben daher durch ihre positive Ladung eine hohe Affinität zur negativen Ladung der DNA. Dabei bilden die Histone H2A, H2B, H3 und H4 an den Polen abgeflachte Proteinkugeln, Oktamere aus den Dimeren der vier verschiedenen Histone. Jede Proteinkugel ist von dem DNA-Faden mit 1,75 Linkswindungen, was 146 Basenpaaren entspricht, umwickelt. Man bezeichnet einen solchen Komplex als **Nukleosomcore**. Der fünfte Typ von Histon H1, ist außerhalb des Nukleosomencore gelagert und mit DNA unterschiedlicher Länge (15-100 Basenpaare) assoziiert. Diese DNA (**spacer**) verbindet ein Nukleosom mit dem anderen und wird somit als **Linker-DNA** bezeichnet. Fortlaufende Einheiten von ca. 200 Basenpaaren bilden einen Faden mit einem Durchmesser von 10 nm.

Auch die H1-Histone verkürzen den DNA-Faden weiter, indem sie mehrere Nukleosomen in helikaler Form aufdrehen. Dies führt zu einer Chromatinfaser von 30 nm Durchmesser. Diese Chromatinfaser wiederum wird in Schlaufen gelegt. Diese Schlaufen lagern sich um ein zentrales Gerüst von Nicht-Histonproteinen. Im Gerüst ist das Enzym Topoisomerase II enthalten, dessen Funktion es ist, die beiden DNA-Stränge der Doppelhelix wieder zu

entwinden. Die Topoisomerase II und andere Proteine des Chromatins binden an AT-reiche Sequenzen.

Man nennt diese Bereiche von mehreren hundert Basenpaaren mit einem AT-Anteil von über 65% auch „**scaffold attachment regions=SARs**“ (= Gerüstkopplungsbereiche),

und sie sind wahrscheinlich die Bereiche, in denen die Chromatinschlaufen aufgehängt sind. Die so in Schlaufen aufgehängte Chromatinfaser wird durch Schleifenbildung weiter verkürzt. Diese weitere Aufwindung zu den Chromatiden eines Metaphasechromosoms führt schließlich zu der ursprünglichen Länge des DNA-Fadens.

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass die DNA-Doppelhelix in den Chromosomen in mehrfach verdrillter Form vorliegt. Die genetische Information des Menschen ist also auf verschiedene Verpackungseinheiten verteilt. Davon enthält jede viele funktionelle Informationseinheiten, die als **Gene** bezeichnet werden. Die Gene liegen in linearer Anordnung auf dem **Chromosom** (Abb.2). Jedes Chromosom ist die Kopplungsgruppe für die in ihm befindlichen Gene. Gene, die auf großen Chromosomen weit voneinander entfernt liegen, werden so vererbt, als ob sie nicht gekoppelt wären, da sie normalerweise immer durch **Crossing-over-Prozesse** getrennt werden. Dies bezeichnet man als **Syntänie** (= zwei Genloci, die sich auf einem Chromosom befinden, aber normalerweise nicht als Kopplungsgruppe vererbt werden).

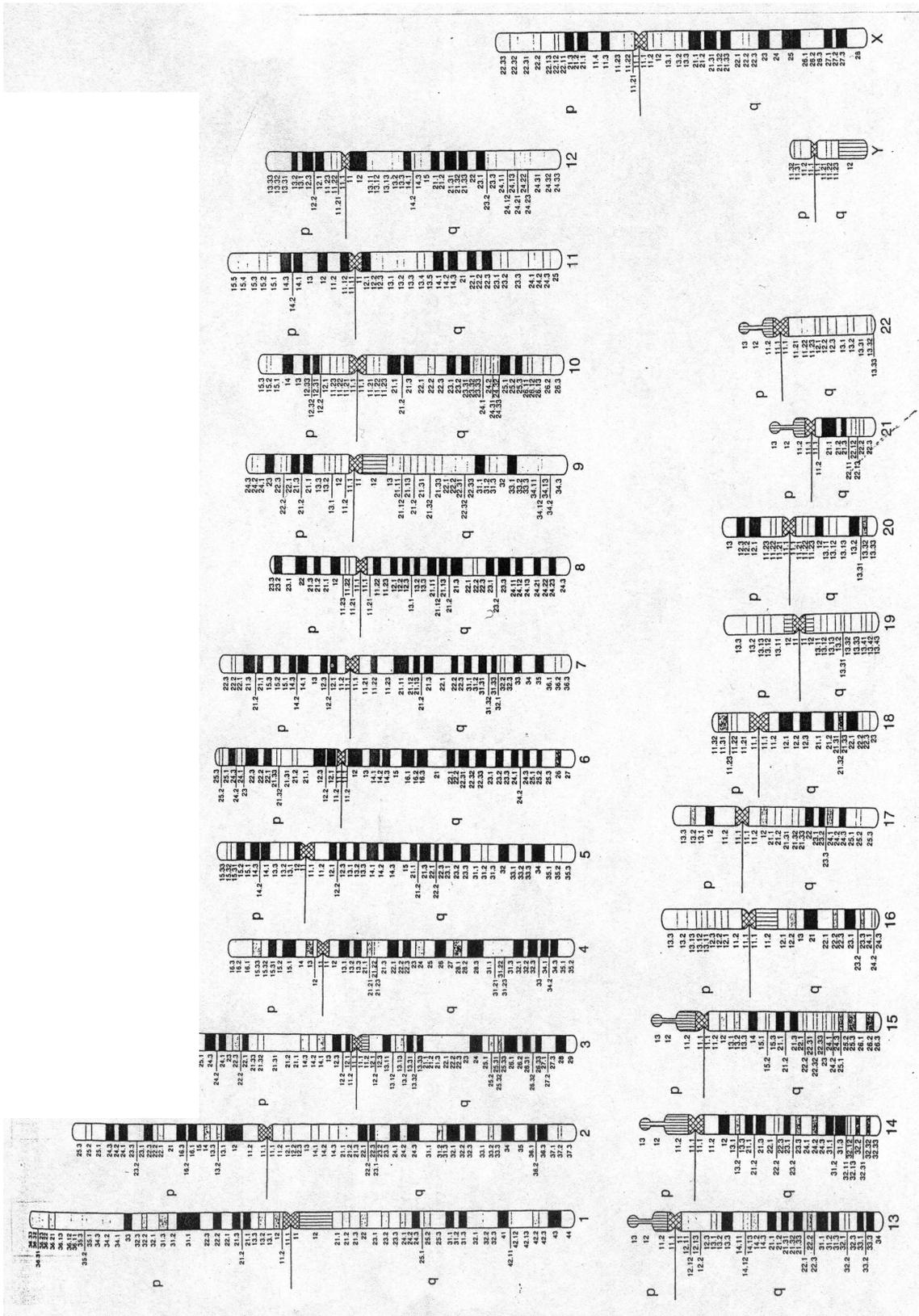


Abbildung 2 Charakterisierung und Darstellung menschlicher Chromosomen

1.3 Aufbau eines Gens

Buselmaier et Tariverdian [17] schildern den Aufbau der Gene wie folgt:

Definition: Ein Gen ist ein Erbfaktor, der eine einzelne Einheit hereditären Materials bildet. Es entspricht einem Abschnitt DNA, der für die Synthese einer einzelnen Polypeptidkette kodiert.

Wenn die Nukleotidsequenz eines Gens bei Prokaryonten mit der Aminosäuresequenz eines Proteins verglichen wird, dann stellt man fest, dass die Reihenfolge der Nukleotide des Gens mit der Aminosäurefolge im Protein übereinstimmt.

Die Länge der DNA-Sequenz des Gens korreliert also direkt mit der Länge des Proteins, für das es kodiert. Besitzt ein Protein x Aminosäuren, so müssen $3x$ Basenpaare dafür kodieren. Tatsächlich hielt man diesen Aufbau, der aus der Analyse von Prokaryonten-Genen hergeleitet war, lange Zeit für allgemein gültig. Es galt lange die schlagwortartige Definition: **ein Gen - ein Enzym** oder später **ein Gen – ein Protein**.

Als man technisch durch die Entdeckung der **Restriktionsenzyme** soweit war, auch Eukaryontengene zu untersuchen, wurde dieses einfache Genkonzept erschüttert.

Das **β -Globulin-Gen** war das erste Gen von Eukaryonten, das ausführlich untersucht wurde. Überraschenderweise wurden durch elektronenmikroskopische Aufnahmen von Hybridmolekülen zwischen β -Globulin, genomischer DNA und **copy-DNA** (c-DNA), die mit Hilfe des Enzyms Reverse Transkriptase aus m-DNA erstellt wurden, Schleifenbildungen entdeckt. Diese wurden durch DNA-Regionen verursacht, die offensichtlich in der c-DNA nicht vorhanden waren (vorausgesetzt, die c-DNA stellt tatsächlich eine identische Kopie der m-RNA dar). Beim β -Globin-Gen wurden zwei solche Regionen entdeckt, die innerhalb der kodierenden Regionen lagen und drei Sequenzen des zugehörigen Proteins bzw. der entsprechenden m-RNA

unterbrochen. Dies war die Entdeckung der **unterbrochenen Gene** bei Eukaryonten.

In der Zwischenzeit wurden in vielen Genen von Eukaryonten solche Unterbrechungen entdeckt, die bisher bei Prokaryonten nie gefunden wurden. Allerdings konnte man vor kurzem bei einem T4-Phagen unterbrochene Gene nachweisen.

Es ist daher nicht unwahrscheinlich, dass auch ihre prokaryontischen Wirte solche Gene enthalten, die man bisher nur noch nicht entdeckt hat.

Jedenfalls ist dieser Genaufbau für den Menschen die Regel. Nur sehr wenige menschliche Gene haben keine Unterbrechungen, und diese sind in der Regel sehr klein.

Insgesamt gibt es bei menschlichen Genen erhebliche Größenunterschiede.

Die Sequenzen, die in der m-RNA vorhanden sind, wurden als **Exons** und solche, die dort fehlen, wurden als **Introns** definiert, wobei Exon- und Intronlängen sehr unterschiedlich sind. In menschlichen Genen sind Exons durchschnittlich 170bp lang. Dabei ist die Exonlänge unabhängig von der Länge des Gens. Man kennt auch einige sehr große Exons. In der Regel übertrifft die Länge der Introns die der Exons um ein Vielfaches. Bei großen Genen ist der Exongehalt sehr gering. Auf dem Weg zwischen Information auf DNA-Ebene und Genexpression muss also noch ein Prozess dazwischengeschaltet sein. Von der DNA wird eine Kopie in Form von RNA abgelesen, die genau die Sequenz des Genoms wiedergibt. Man hat diese RNA auch als **heterogene nukleäre RNA (hn-RNA)** bezeichnet. Diese hn-RNA kann allerdings nicht direkt für die Proteinproduktion verwendet werden; sie ist ein Rohling, der erst noch durch die Exzision der Introns zurechtgeschnitten werden muss. Man nennt diesen Vorgang „**splicing**“. Das Ergebnis des „splicings“ ist eine m-RNA, die aus einer Reihenfolge von Exons zusammengesetzt ist. Dabei werden die Exons immer in derselben Reihenfolge hintereinander geordnet, in der sie in der DNA vorkommen.

Nicht jedes Gen wird an Ribosomen translatiert. Es werden nur Gene translatiert, von denen eine m-RNA gebildet wird. Ausschließlich transkribiert werden dagegen Gene für t-RNA und für r-RNA.

Man könnte zusammenfassend ein Gen als den Abschnitt der DNS definieren, der zwischen einem Transkriptionsstart (**Promotor**) und einem Transkriptionseende (**Terminator**) liegt. Diese Definition auf der Basis der Transkriptionseinheit stimmt tatsächlich für viele Gene. Sie stimmt jedoch nicht, wenn mehrere Gene in einer Transkriptionseinheit, gesteuert durch einen Promotor, abgelesen werden. Es gibt also keine eindeutige Definition für Gene, man kann letztlich ein Gen nur folgendermaßen definieren:

Ein Gen ist ein Abschnitt der DNA, der ein funktionelles Produkt kodiert.

In den meisten Fällen ist dieses Produkt eine Polypeptidkette.

Neben den aktiven und funktionstüchtigen Genen gibt es viele **Pseudogene**. Sie entstehen oft bei der Entwicklung von Genfamilien und sind Nukleinsäuresequenzen, die über weite, jedoch nicht über alle Bereiche einem vollwertigen Gen entsprechen. Sie werden aber in der Regel weder transkribiert noch translatiert.

Pseudogene sind nicht mehr funktionierende Gene, die ursprünglich durch Genduplikation entstanden sind und anschließend durch Mutationen, z.B. **Deletionen**, modifiziert wurden.

Sie bilden sozusagen den „Mülleimer der Evolution“. Dies ist jedoch kein Grund für das Genom, sich dieser Pseudogene zu entledigen. Vermutlich erwies sich im Laufe der Evolution das Sammeln der Pseudogene als nützlich. Denn sie können verändert weiterentwickelt werden, um wieder transkribiert und zu einem neuen veränderten Protein translatiert zu werden.

Alle bisher gewonnenen Daten weisen daraufhin, dass das menschliche Genom 65.000-80.000 Gene enthält. Das menschliche Genom besitzt jedoch viel mehr DNA als aufgrund der Anzahl der Gene zu erwarten wäre. Aber nur 3% der DNA kodieren für Proteine. Der Rest sind Introns, Pseudogene und repetitive DNA-Sequenzen.

1.4 Methoden der Genlokalisierung

Die Methoden der Genlokalisierung werden von **Buselmaier et Tariverdian [18]** folgendermaßen beschrieben:

Die Genlokalisierung ist durch das Humangenomprojekt, das erste wissenschaftliche Großprojekt der Biologie, auf einem wissenschaftlich sehr hohen Niveau angelangt. Die wichtigsten Methoden der Genlokalisierung sollen hier exemplarisch beschrieben werden.

Grundsätzlich kann man zwischen der **physikalischen** und der **genetischen Kartierung** unterscheiden.

Ein wichtiger Anteil des Humangenomprojektes beschäftigt sich mit der Lokalisation von DNA-Sequenzen auf bestimmten „physikalischen“ Stücken von Chromosomen.

Es werden verschiedene Methoden angewendet. Es ist seit langem bekannt, dass Zellen in der Zellkultur miteinander fusionieren können. Die Zellen verschmelzen miteinander über die Zellmembran, und es entstehen zunächst Zellen mit zwei Kernen. Bei der nächsten **Mitose** kommt es zur Mischung der Chromosomen beider Ursprungszellen. Es entsteht ein tetraploider Zellkern, der allerdings bei den nächsten Mitosen nach und nach überschüssige Chromosomen in ein Zellteilungsprodukt abgibt.

Vor 30 Jahren konnte man diese Beobachtung experimentell systematisieren. Man stellte fest, dass bestimmte Viren die Rate der Zellfusion erheblich steigern können. Am häufigsten benutzt man dazu das Sendai-virus aus der Gruppe der Paramyxoviren, dessen Virusnukleinsäure vorher zerstört wird, um eine tödliche Infektion der Zelle zu verhindern. Die Fusionsaktivität wird hierdurch nicht wesentlich beeinflusst. Zur Lokalisation von menschlichen Genen benutzt man Fusionsprodukte von menschlichen Fibroblasten oder Lymphozyten bestimmter Mauszell-Linien. Wie bereits erwähnt, gehen bei fusionierten Zellen Chromosomen verloren. Bei den Maus-Mensch-Zellhybriden bleibt der Mausechromosomensatz mit $2n=40$ jedoch vollständig erhalten. Die menschlichen Chromosomen gehen nach und nach „verloren“, so dass man in Hybridzellen nie 86 ($40 + 46$) Chromosomen findet, sondern meist 41-55. Die

übrigbleibenden menschlichen Chromosomen sind eine statistische Auswahl aus dem Chromosomensatz.

Dabei gibt es Methoden, den Verlust der menschlichen Chromosomen auch spezifisch zu selektionieren. Die Chromosomen des Menschen lassen sich nur durch **PCR**-Reihenanalyse mit chromosomenspezifischen **Primern** indentifizieren. Wenn man nun Hybridzellen mit verschiedenen menschlichen Chromosomensätzen isoliert, ist es möglich, ein Set von Hybridzellen zu erzeugen, mit dem man jede DNA-Sequenz spezifisch zuordnen kann. Dies kann wiederum mit der PCR-Methode geschehen oder mit radioaktiv markierten Hybridisierungssonden. Es gibt mehrere Abwandlungen dieser Methode, mit denen man entweder chromosomenspezifische Hybridzellen herstellen kann oder nicht ganze Chromosomen in den Hybridzellen vorfindet, sondern eine subchromosomale Kartierung mit Hilfe von Hybridzellen vornehmen kann, die nur Fragmente von menschlichen Chromosomen enthalten.

Aber auch mit den subtilen Methoden dieses Bereiches braucht man 100-200 Hybridzellen, um eine Karte für ein menschliches Chromosom zu erstellen, was in der Praxis für die Kartierung eines ganzen Genoms mit riesigen Mengen von Hybridzellen nicht durchführbar ist.

Eine andere Methode zur Lokalisation menschlicher Gene ist die **In situ-DNA-DNA-Hybridisierung**. Bei dieser Technik wird radioaktiver DNA unter bestimmten Bedingungen Metaphasechromosomen beigegeben. Die DNA bindet an Chromosomenabschnitte, in denen die komplementären Sequenzen vorkommen. Zum Nachweis der am Chromosom gebundenen radioaktiven DNA verwendet man autoradiographische Methoden und wertet die Signale statistisch aus. Es ist gelungen, die Auflösung der In situ-Hybridisierung mit Fluoreszenzfarbstoffen (**FISH= Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung**) erheblich zu steigern. Man verwendet DNA-Sonden, die durch modifizierte Nukleotide mit Reportermolekülen charakterisiert sind. An diese Reportermoleküle lassen sich fluoreszenzmarkierte Affinitätsmoleküle binden. Über Reportermoleküle mit verschiedenen Fluorophoren und mit technisch hochentwickelten Bildverarbeitungssystemen ist es möglich geworden, mehrere DNA-Klone

gleichzeitig zuzuordnen. Die maximale Auflösung des Systems liegt bei Klonen von ungefähr 2kb.

Die FISH-Technik hat in einer besonderen Form der Anwendung zum sog. **chromosome painting** geführt. Hier besteht die Sonden-DNA aus vielen verschiedenen DNA-Fragmenten, die von einem einzigen Chromosomentyp stammen. Man erhält solche Sonden durch eine Kombination aller DNA-Insertionsfragmente einer chromosomenspezifischen DNA-Bank. Nach Hybridisierung wird das Signal von vielen einzelnen Loci über das ganze Chromosom gebildet, und es fluoresziert das ganze Chromosom. Durch verschiedene Fluoreszenzmarker kann man alle Chromosomen und sogar Teilbereiche von ihnen in unterschiedlichen Farben markieren.

Chromosome painting findet einen weiten Anwendungsbereich bei komplizierten chromosomalen Umlagerungen, die teilweise bei neu entstandenen Strukturveränderungen oder sehr häufig bei Tumoren vorzufinden sind.

Auch bei der FISH-Kartierung lässt sich die Auflösung durch Hybridisierung von DNA-Sonden an ausgestreckte Chromosomen, künstlich entspiralisierte DNA-Fasern oder an Interphase-Chromosomen, die entspiralisiert vorliegen, noch steigern.

Die bis jetzt beschriebenen Methoden zur physikalischen Kartierung haben Grenzen im Auflösungsvermögen im Bereich einiger Megabasen. Deshalb werden sie durch molekulare Kartierungsmethoden ergänzt, mit deren Hilfe die DNA in einem Bereich von einem Basenpaar bis zu mehreren Megabasen analysierbar ist. Dabei erhält man die genaueste Karte natürlich durch die direkte **Sequenzierung** der DNA. Eine gröbere Kartierung (etwa 0,1 kb bis über 1 MB) wird durch die **Restriktionskartierung** mit Restriktionsendonukleasen erreicht. Auf diese Weise kann man Restriktionskarten erstellen, in denen die Reihenfolge und die Abstände der Erkennungsstellen für mehrere Restriktionsendonukleasen eingetragen sind. Auch die bereits erwähnten Mini- und Mikrosatelliten werden bei der Kartierung mit großem Erfolg eingesetzt. Zur Erstellung der endgültigen physikalischen Karte, also der Beschreibung der vollständigen Nukleotidsequenz, ist es bei der Moleküllänge beispielsweise

eines ganzen Chromosoms notwendig, dieses in ein System sich ergänzender Klone (Einbringen eines Fragments in ein biologisches Vermehrungssystem) mit DNA-Fragmenten, die die gewünschte Sequenz völlig abdecken, aufzulösen. Dabei müssen sich die Klone überlappen, damit keine Lücken auftreten. Man bezeichnet das als ein **Klon-Contig**. Durch die Klonierung werden DNA-Fragmente natürlich auf verschiedene Zellen verteilt, so dass die ursprüngliche Anordnung der Fragmente im Chromosom verloren geht. Mit geeigneten Methoden muss man dann diese Information über die Überlappung der Insertionsfragmente wiedergewinnen.

Im Gegensatz zu physikalischen Karten entstehen **genetische Karten** mit Hilfe von Familienuntersuchungen. Es wird die Segregation von Merkmalen in Familien über die Segregation von Allelen an zwei oder mehr Loci in der Meiose verfolgt.

Dabei müssen die Merkmale auf Einzelgenmutationen zurückzuführen sein. Man bezeichnet solche Familienuntersuchungen als **Kopplungsanalysen**.

Bei der herkömmlichen genetischen Kopplungsanalyse nutzt man die Befunde aus der Stammbaumanalyse, um die genetische Kopplung zweier Loci zu untersuchen. Dies geschieht über die Ermittlung der Rekombinationshäufigkeit unter der Voraussetzung, dass zwei Genloci um so wahrscheinlicher in der **Miose** voneinander durch **Crossing-over** getrennt werden, je weiter sie auf einem Chromosom voneinander entfernt sind. Je seltener sie getrennt werden, desto näher liegen sie beisammen. Heute verwendet man für solche Kopplungsuntersuchungen häufig Mini- und Mikrosatelliten als Marker.

Man benötigt nur ein paar hundert solcher Marker, die zufällig über das Genom verteilt sind, um mindestens einen Marker zu finden, der eng mit einer vorgegebenen erblichen Erkrankung gekoppelt ist. Früher dienten in Kopplungsuntersuchungen vor allem Proteinpolymorphismen als Marker.

Im Vergleich von physikalischer und genetischer Karte gibt es Abweichungen im Kartenabstand. Dies hängt mit der nicht zufälligen Verteilung von Crossing-over-Prozessen zusammen.

Neben diesen überwiegend sehr modernen Methoden zur Lokalisation von Genen gibt es noch die Methoden der klassischen medizinischen Zytogenetik.

An erster Stelle wären hier Chromosomenzuordnungen von Genen zu nennen, die auf mikroskopisch erkennbaren Chromosomenstrukturveränderungen beruhen. Durch Untersuchung von Gen-Dosis-Effekten kann man Rückschlüsse auf die Lage eines Gens ziehen, wenn ein Verlust oder eine Vermehrung eines bestimmten Chromosoms oder Chromosomensegments vorliegt.

Auch X-chromosomale Gene lassen sich nach einem ähnlichen Muster auffinden. Tritt ein Gendefekt oder eine Genvariante nur im männlichen Geschlecht auf, so ist eine Lage des dazugehörigen Genortes auf dem X-Chromosom wahrscheinlich, da im weiblichen Geschlecht der Effekt durch das intakte zweite X-Chromosom überlagert wird. Männlichen Individuen fehlt aber ein entsprechender Genort, da statt des homologen X-Chromosoms ein Y-Chromosom vorhanden ist.

Die beschriebenen molekularbiologischen Grundlagen zur Genetik und Tumorentstehung dienen dem Verständnis der folgenden Aussagen über die Pathogenese des Hepatoblastoms, des Neuroblastoms, des Wilms Tumors und des Retinoblastoms.

Wegen der möglichen Analogie in der Pathogenese von Tumoren und Fehlbildungen wird auch eine angeborene Fehlbildung, der Morbus Hirschsprung, in die Untersuchung mit einbezogen, von der schon ein Großteil der Genetik aufgeklärt ist.

2 ZIELSETZUNG

Das Ziel dieser Arbeit ist es, das umfangreiche wissenschaftliche Schrifttum über die Entstehung des Hepatoblastoms, des Neuroblastoms, des Wilms Tumors, des Retinoblastoms und des Morbus Hirschsprung kritisch zu sichten, um eine Wissensgrundlage zur Genetik der blastomatösen Tumoren und einer Fehlbildung zusammenzustellen. Da die einzelnen Publikationen jeweils nur Teilaspekte berichten und oft kontroverse Aussagen erkennbar sind, sollen sie kritisch geprüft, verglichen und anschließend synoptisch ausgewertet werden. Die Bedeutung von Gen-Dateien für die Onkologie hat sich in den letzten Jahren vergrößert. Sie sollen zu einer schnelleren und sichereren Diagnose, zur Typisierung der Tumoren nach biologischen Merkmalen, zur Stratifizierung der Therapie nach der biologischen Aktivität und zur Präzisierung der Prognose beitragen.

3 METHODEN

Grundlage dieser Arbeit ist eine Literaturrecherche in der *medline*.

In der Literatursuche wurden verschiedene Stichwörter eingegeben: Eine definitive kinderchirurgische Erkrankung, Genetik, das Patientenalter (0-18 Jahre) und ein bestimmter Publikationszeitraum (1995-2001).

Besonders beachtet wurden in der Auswertung widersprüchliche Aussagen.

3.1 Erkrankungen, die in der Studie berücksichtigt werden

Folgende Krankheiten wurden ausgewählt: das Hepatoblastom, der Wilms Tumor (das Nephroblastom), das Retinoblastom, das Neuroblastom und der Morbus Hirschsprung.

3.2 Genetik

Diese Erkrankungen wurden in der Literaturrecherche unter dem Aspekt der genetischen Veränderungen auf verschiedenen Ebenen aufgearbeitet, die im folgenden erwähnt werden.

3.2.1 Chromosomen

Auf der Ebene der Chromosomen wurde bei den Erkrankungen nach chromosomalen Veränderungen der betroffenen Patienten gesucht.

3.2.2 Gene

Gesammelt und analysiert wurden Veränderungen an Genen, die für die Pathogenese der Erkrankungen nach Meinung der Autoren relevant zu sein schienen.

3.2.3 Allele

Berücksichtigt wurden auch veränderte Allele oder die Kombination von einem oder zwei betroffenen Allelen.

3.2.4 Expressionsproteine

Beachtet wurden zudem Expressionsproteine, die an der Pathogenese der beschriebenen Krankheiten beteiligt sein sollen.

3.2.5 Verknüpfungen mit anderen Erkrankungen und Tumoren

Es wurde nach einer Verbindung der einzelnen Erkrankungen untereinander oder mit anderen Tumoren gesucht. Diese Verbindungen können auf der Ebene der Chromosomen, Gene, Allele oder Expressionsproteine oder auch nur in der Tatsache, dass bestimmte Erkrankungen oder Tumoren gehäuft miteinander oder assoziiert auftreten, bestehen.

3.3 Alter

Das Alter der Patienten wurde auf 0-18 Jahre begrenzt, da dieser Zeitraum für die Kinderchirurgie von Bedeutung ist.

3.4 Zeitraum

Der Zeitraum, in dem die Forschungsergebnisse erschienen sein sollen, erstreckte sich auf den Bereich von 1995 bis 2001 (mit Ausnahme des Retinoblastoms: 1983 bis 2001), weil in diesem Zeitraum vermehrt über genetische Grundlagen der Onkologie und des Morbus Hirschsprung publiziert wurde.

4 ERGEBNISSE

In den Ergebnissen sollen die Aussagen der verschiedenen Autoren zu den chromosomalen und genetischen Veränderungen dargestellt werden, ohne sie mit den Wertungen und Deutungen sowie den Fallzahlen der jeweiligen Autoren zu verknüpfen. Diese Korrelation würde eine Aussage zur Relevanz bedeuten, die erst im Kapitel Diskussion aufgegriffen werden soll.

4.1 Hepatoblastom

Hinsichtlich der Pathogenese des Hepatoblastoms wurde eine umfangreiche Reihe von Chromosomen und genetischen Faktoren identifiziert. Es gibt nach einer präliminaren Durchsicht des Schrifttums fast kein Chromosom, das nicht betroffen sein soll.

Deshalb wurden sämtliche Chromosomen auf Veränderungen überprüft.

Es gibt auch Hinweise, dass bei der Entstehung des Hepatoblastoms ein Zusammenspiel mehrerer Gene und Proteine eine Rolle spielt, deshalb wurde auch dieser Aspekt betrachtet.

4.1.1 Chromosomen

In diesem Kapitel werden die betroffenen Chromosomen der Übersichtlichkeit wegen der Reihe nach besprochen, wobei keinerlei Wertung in der Reihenfolge der Beschreibung erfolgen soll.

Chromosom 1:

Sowohl der kurze (1p), als auch der lange (1q) Arm des ersten Chromosoms erscheinen relevant. Auf dem kurzen Arm ist im besonderen die Region 1p32 und auf dem langen Arm sind die Regionen 1q12, 1q21, 1q24-q25 und 1q32 betroffen.

Chromosom 2:

Am Chromosom 2 haben Untersuchungen zum Hepatoblastom den kurzen Arm (2p) und die Region 2q23-24 auf dem langen Arm als veränderte Regionen ergeben.

Chromosom 3:

Chromosom 3 wird in der Literatur nicht erwähnt.

Chromosom 4:

Chromosom 4 zeigt einen Verlust genetischen Materials auf dem langen Arm (4q), es kommt zu einer unbalancierten Translokation in Form von $der(4)t(1;4)(q12;q34)$.

Chromosom 5:

Auf Chromosom 5 wurde bei zwei Hepatoblastomen ein Hinzufügen von genetischem Material gefunden, $add(5)(q31)$. In diesem Fall wurde auch eine Verbindung zwischen Familiärer adenomatöser Polyposis und dem Hepatoblastom beschrieben, die Schnittstelle in diesem erwähnten Fall liegt distal von 5q21.

Chromosom 6:

Chromosom 6 wird bei einem fetalen Hepatoblastom erwähnt, im besonderen die Region 6q27.

Chromosom 7:

Chromosom 7 zeigt in einer Untersuchung von 34 Hepatoblastomen einen Zuwachs an genetischem Material am langen Arm. Es besteht eine wahrscheinliche Relevanz des langen Arms von Chromosom 7 bei Beckwith-Wiedemann-Syndrom-assoziierten Tumoren, Wilms Tumoren und Rbdomyosarkomen. Außerdem ist auf dem kurzen Arm die Region 22 (7p22) bei 2 fetalen Hepatoblastomen betroffen.

Chromosom 8:

Auf Chromosom 8 ist der kurze Arm (8p) und der lange Arm (8q) mit den Genorten q11.2 bis q13 und q11.2 bis q21.3 wichtig für die Entstehung des Hepatoblastoms.

Chromosom 9:

Ein häufiger Verlust genetischen Materials wird auf Chromosom 9 festgestellt, auf dem Genort 9p21 und 9p22-pter.

Chromosom 10:

Bei Chromosom 10 spielt der lange Arm (10q) eine Rolle, nämlich der Genort 10q24-q26.

Chromosom 11:

Auf Chromosom 11 wurde ein LOH (loss of heterozygosity = Verlust der Heterozygotie) in der Region 11p15.5 gefunden. Dieser Verlust hat seinen Ursprung auf der mütterlichen Seite.

Chromosom 12:

Beim Chromosom 12 haben anscheinend sowohl der kurze (12p), als auch der lange Arm (12q) eine Bedeutung.

Chromosom 13:

Bei der Untersuchung der Chromosomenregion 13q21-q22 ergibt sich ein Verlust genetischen Materials. Interessanterweise zeigt sich ein Unterschied zwischen Patienten kaukasischer und japanischer Herkunft, der Verlust von 13q tritt nur in den japanischen Proben des Tumormaterials auf.

Chromosom 14:

Es zeigen sich ebenfalls Veränderungen im langen Arm des Chromosoms 14 (14q).

Chromosom 15:

Bei Chromosom 15 ist es der kurze Arm (15p), an dem im Tumormaterial Veränderungen gefunden wurden.

Chromosom 16:

Chromosom 16 wird in der Literatur nicht erwähnt.

Chromosom 17:

Chromosom 17 zeigt einen Zuwachs genetischen Materials. Bei Untersuchungen der häufigsten Chromosomenanomalien kommt es zu einem Zuwachs von Chromosom 17.

Chromosom 18 und 19:

Chromosom 18 und 19 erscheinen beide nicht.

Chromosom 20:

Chromosom 20 ist eines der Chromosomen, bei dem am häufigsten ein Zuwachs von genetischem Material gefunden wurde, im besonderen auf dem langen Arm (20q).

Chromosom 21:

Bei Chromosom 21 zeigen sich Abweichungen, besonders in der Region 21p12 bis 21p13, beim fetalen Hepatoblastom.

Chromosom 22:

Bei Chromosom 22 ist häufig der lange Arm (22q) betroffen.

X- und Y-Chromosom:

Das X- und Y-Chromosom werden im Zusammenhang mit dem Hepatoblastom nicht beschrieben.

4.1.2 Gene

Im Zusammenhang mit der Pathogenese des Hepatoblastoms werden oft Regulatorgene erwähnt, deren Veränderungen und Zusammenwirken zur Entstehung des Hepatoblastoms beitragen sollen. Es handelt sich zum Beispiel um Gene, die die Produktion von Chromatin verändernden Enzymen, cyclin-abhängigen Kinaseinhibitoren, Wachstumsfaktoren, Onkogen- und Zellzyklusregulatoren kodieren und somit in der Onkogenese eine wichtige Rolle spielen.

Beta-catenin-Gen:

Eine herausragende Rolle scheint dabei das Beta-catenin-Gen, das auf Chromosom 5q21-q22 lokalisiert ist, zu haben. Dieses Gen ist ein Schlüsselement im Cadherin-vermittelten-Zelladhensionssystem und dem sogenannten Wnt/wingless pathway (Abb.3) und wird von dem APC (Adenomatöse Polyposis coli) Gen kontrolliert. In diesem Gen kommt es zu Deletionen und missense-Mutation (=Punktmutationen, die durch Veränderungen einer Aminosäure zu einem veränderten Polypeptid führen). Das Beta-catenin zeigt in einer großen Anzahl von Hepatoblastomen eine hohe Immunoreaktivität, vor allem im Zytoplasma und im Nukleolus. Das nukleäre Beta-catenin ist bei einer speziellen Färbung beim embryonalen und undifferenzierten Hepatoblastom signifikant höher als beim fetalen Hepatoblastom. Es wird auch darüber spekuliert, ob die immunhistochemische Analyse des Beta-catenins eine klinische Relevanz für die Prognose des Patienten mit Hepatoblastom hat. In 89% der untersuchten Proben von Hepatoblastomen wurde eine Mutation des Exon 3 des Beta-catenin-Gens gefunden.

APC-Gen:

Das bereits erwähnte APC-Gen spielt ebenfalls eine Rolle und wird im Zusammenhang mit dem Hepatoblastom häufiger erwähnt. Dieses Gen wurde vor allem in sporadischen Fällen des Hepatoblastoms in Verbindung mit der Familiären adenomatösen Polyposis coli gefunden. Diese Patienten, die sowohl

IGF-2-Gen:

Ein weiteres Gen, das in Verbindung mit der Entstehung des Hepatoblastoms diskutiert wird, ist das IGF-2-Gen (insulin-like growth factor-2) auf Chromosom 11p15.5. Es kommt zu einem **LOI** (loss of imprinting= Verlust der Fähigkeit, ein Gen chemisch zu verändern) des Gens und ist in wenigen, sporadisch auftretenden Fällen des Hepatoblastoms, verbunden mit der Inaktivierung des H19-Gens, beschrieben worden. Das IGF-2-Gen ist außerdem abhängig von Promotoren. Die Lokalisation des IGF-2-Gens ist auf dem kurzen Arm des Chromosoms 11 (11p), zusammen mit dem WT-1-Gen. Es wird darüber spekuliert, ob die IGF-2 und die IGFBP-2-Genexpression als Marker für den Ausdifferenzierungsgrad des Tumors angesehen werden kann. Das LOI des IGF-2-Gens findet man auch in 70% der Wilms Tumoren und beim Rhabdomyosarkom.

H19-Gen:

Wie bereits erwähnt, spielt auch das H19-Gen eine Rolle im Zusammenhang mit der Pathogenese des Hepatoblastoms. In einer Untersuchung zeigen alle informativen Tumoren eine monoallele Expression von H19. Auch bei zwei anderen embryonalen Tumoren, dem Wilms Tumor und dem Rhabdomyosarkom, zeigt sich eine Inaktivierung von H19, entweder durch LOH oder durch Hypermethylierung des mütterlichen Allels. Das LOI des IGF-2-Gens ist in manchen Fällen verbunden mit der Inaktivierung des H19-Gens, in anderen jedoch scheint es unabhängig davon zu sein, der genaue Mechanismus ist unbekannt. H19 scheint eine Rolle als Tumorsuppressorgen in sporadisch auftretenden Fällen des Hepatoblastoms zu spielen.

MDR1-, GSTmu- und TOPOIIa-Gen:

Bei der Medikamentenresistenz des Hepatoblastoms scheinen folgende Gene eine Rolle zu spielen: MDR1-, GST mu-(gluthation S-transferase mu) und TOPOIIa-(Topoisomerase IIa) Gen. Dies wurde in einem Modellversuch nachgewiesen, in dem Mäusen das Hepatoblastommaterial von Patienten transplantiert wurde.

Cyclin Ds-Gen:

Das Produkt des CyclinDs-Gens hat eine zu hohe Expression und auch CDKN2C (cyclin-dependent kinase inhibitor 2) wird exprimiert in Hepatoblastomproben. Die Analyse des CyclinD-Gens zeigt, dass Cyclin D1 in normalem Lebergewebe stark transkribiert wird, wohingegen Cyclin D2 und D3 in den veränderten Proben verstärkt auftraten. Das CDKN2-Gen ist jedoch von seiner Struktur her völlig unverändert im menschlichen Hepatoblastom.

WT-1-Gen:

Das bereits erwähnte WT-1-Gen, auf dem kurzen Arm des Chromosom 11, zeigt beim Hepatoblastom einen LOH.

MCC-Gen:

Wie beim APC-Gen kommt es auch beim MCC-Gen zu einem LOH.

KIP2-Gen:

Das KIP2-Gen ist auf dem kurzen Arm des Chromosoms 11 auf dem Genlocus 15.5 (11p15.5) lokalisiert und wird hauptsächlich vom mütterlichen Allel exprimiert. Es kodiert einen Cyclin-abhängigen Kinaseinhibitor. Ein LOH des KIP2-Locus wurde gefunden. Obwohl in teilweise 25% der Fälle ein LOH des KIP2-Locus auftrat, wurde keine Mutation gefunden. Die Überexpression von KIP2 in Hepatoblastomen spricht jedoch gegen eine Rolle als Tumorsuppressorgen.

Das KIP2-Gen, das auf Chromosom 11p15.5 lokalisiert ist, wird in einer großen Anzahl der Hepatoblastomfälle überexprimiert. KIP2 zeigt keine Mutation im Falle des Hepatoblastoms, hat aber eine erhöhte Aktivität im Vergleich zu drei anderen veränderten Genen: p57 (KIP2), IGF2 und H19.

p53-Gen:

Das p53-Gen zeigt in einer Vielzahl menschlicher Tumoren eine Veränderung, auch im Falle des Hepatoblastoms. Die Mutation des p53-Gens könnte

demnach in manchen speziellen Fällen eine wichtige Rolle bei der Entstehung des Hepatoblastoms spielen.

4.1.3 Expressionsproteine

HNF-1 und vHNF-1:

Es wurde ein Zusammenhang zwischen der Produktion des HNF-1 (hepatocyte nuclear factor-1) und des vHNF-1 (variant hepatocyte nuclear factor-1) einerseits, sowie der histologischen Differenzierung des Hepatoblastoms und des HCC andererseits festgestellt.

IGF2 und IGFBP2:

Die Expression von IGF2 (insulin-like growth factor 2) und IGFBP2 (insulin-like growth factor binding protein 2) wurde in mehreren Fällen des Hepatoblastoms nachgewiesen. Es wird vermutet, dass ihre Expression ebenfalls mit dem Grad der Differenzierung des Hepatoblastoms korreliert ist und somit als Marker dienen könnte.

c-erb2 und p53:

Das Hepatoblastom und das hepatocelluläre Karzinom gehören zu den PMETL (primary malignant epithelial tumors of the liver). Bei diesen Tumoren wurde die Expression des Onkogens c-erb2 und des Tumorsuppressorgens p53 gemessen, um eventuell einen weiteren Prognosefaktor zu erhalten.

Beta-catenin:

Bereits erwähnt wurde das Beta-catenin, das eine wichtige Rolle im Zusammenhang mit dem Hepatoblastom spielen soll. Seine erhöhte Expression wurde mehrfach nachgewiesen.

hGHR:

Die hGHR (human growth hormone receptor)-mRNS wurde in verschiedenen Varianten (V1-V8) im Lebergewebe von Erwachsenen gefunden. Nun wurde die

Expression der Varianten (V1 und V3) in mehreren menschlichen fetalen und postnatalen Geweben, Hepatoblastom- und HCC-Proben untersucht. V3 wurde unter anderem in allen fetalen und postnatalen Geweben exprimiert, V1 jedoch wurde nur in postnatalen Proben gefunden.

Die Expression von V1 ist nicht messbar in Hepatoblastom-Proben. V3 hingegen wird in allen Hepatoblastomen exprimiert. Auch in zwei Wilms Tumoren konnte V3 nachgewiesen werden. Die Ergebnisse suggerieren, dass eine gewebe-, foetus- und tumorspezifische Regulation von V1 hGHR-mRNS beim Menschen stattfindet.

Alphafetoprotein:

Das Alphafetoprotein ist sowohl in der Schwangerschaft im Serum physiologisch erhöht, als auch bei bestimmten Erkrankungen, z.B. Lebererkrankungen und Tumoren. Beim Hepatoblastom wird es explizit als erhöht erwähnt und dient daher als molekularbiologischer Marker.

4.1.4 Chromosomenaberrationen

Mit dem Hepatoblastom werden verschiedene Chromosomenaberrationen, vor allem Trisomien, in Verbindung gebracht. Teilweise sind es sehr selten auftretende Trisomien oder Deletionen einzelner Chromosomen:

der(4)t(q12;q34), unbalancierte Translokation

46, XY,

der(2)t(1;2)(q32;q37)

der(6)t(1;6)(q12;q27)

der(7)t(2;7)(q23;22)

der(21)t(2;21)(q23;p12), multiple unbalancierte Translokation mit partieller

Tetrasomie von 1q, partieller Trisomie von 2q und partieller

Monosomie von 21p.

46, XX, del(17)(p12), Deletion von 17p

47, XY, +2, Trisomie 2

47, XX, +20, Trisomie 20

47, XX, +18, Trisomie 18

47, XY, add (4)(q26),-9, +20

47, XY, der(4)(q35), dir ins(9;2)(p22;q?21q?25), +20, Trisomie 20 und
Trisomie 2 und strukturelles Rearrangement von 4q

48,XX, +2, +8, Trisomie 2 und 8

4.1.5 Verknüpfungen mit anderen Erkrankungen und Tumoren

Das Auftreten einer **Familiären adenomatösen Polyposis (FAP)** (siehe Abbildung 4 im Anhang) wird in Verbindung mit dem Hepatoblastom mehrmals erwähnt. Ein genetischer Zusammenhang besteht über das APC-Gen. Bei diesem Krankheitsbild, das autosomal-dominant vererbt wird, treten multiple neoplastische adenomatöse Polypen (Adenome) im Dickdarm auf. Die Erstmanifestation findet zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr statt, erste Symptome sind Blutstuhl, Schleimabgang und Diarrhoe. Die Diagnose wird durch eine Koloskopie mit Biopsatentnahme und Doppelkontraströntgen des Kolons gestellt. Therapie der Wahl ist zunächst die Abtragung der Polypen während der diagnostischen Endoskopie (Polypektomie), bei größeren Befunden die Kolektomie.

Die FAP ist eine obligate Präkanzerose und hat ein Karzinomrisiko von über 90%. Dadurch ist es wichtig, eine engmaschige Nachsorge der Patienten und dessen Angehörigen zu gewährleisten. Mutationen des APC-Gens wurden auch bei sporadisch auftretenden Hepatoblastomen gefunden. Das APC-Gen kontrolliert das Schlüsselement des Cadherin-vermittelten Zelladhensionssystems und des sogenannten Wnt/wingless pathway, nämlich das Beta-catenin. Diese Mutation führt zu einer Veränderung des Beta-catenins auf Exon 3 durch eine typische Phosphorylierung, wie sie in anderen Tumorarten ebenfalls vorkommt.

Der **Wilms-Tumor** (siehe Abbildung 4 im Anhang) oder das Nephroblastom soll an dieser Stelle im Zusammenhang mit dem Hepatoblastom erwähnt werden. Er steht mit dem Hepatoblastom über das WT-1-Gen in pathogenetischer

Verbindung. Der Wilms-Tumor ist ein meist einseitig auftretender, zunächst verdrängend wachsender, maligner Tumor der kindlichen Niere. Er metastasiert häufig hämatogen in Lunge, Leber, Gehirn und regionalen Lymphknoten. Er tritt gehäuft zwischen dem 3. und 5. Lebensjahr auf. Erstsymptome bei Kindern sind Tumormasse im Bauch, Mikrohämaturie, Bauchschmerzen mit und ohne Fieber, Gewichtsverlust und Magen-Darm-Störungen mit und ohne Fieber, Erbrechen oder Durchfall. Die Therapie dieser Erkrankung besteht aus präoperativer Chemotherapie und En-bloc-Resektion von Tumor und Niere, sowie einer regionären Lymphknotendisektion.

Die Prognose ist abhängig vom histologischen Subtyp, es besteht jedoch eine nahezu 90%ige Heilungschance bei frühzeitiger Diagnose. Bei einer PCR-Analyse des kurzen Arms von Chromosom 11 wurde beim Hepatoblastom ein LOH aller informationstragenden Genloci gefunden, die auch das WT-1-Gen beinhalten.

Das **Beckwith-Wiedemann-Syndrom** (siehe Abbildung 4 im Anhang) oder auch Dysplasia spondyloepiphysaria congenita ist ein autosomal-dominant vererbtes Fehlbildungssyndrom mit disproportioniertem Minderwuchs, hochgradiger Verkürzung der Wirbelsäule, fassförmigem Thorax, tiefer Lendenlordose und schweren Fehlbildungen der rumpfnahen Epiphysen (Endgröße 140 cm). Häufig ist dieses Syndrom mit Myopie, Netzhautablösung und gelegentlicher Innenohrschwerhörigkeit kombiniert. Meistens findet man keine Beteiligung von Hirnschädel, Händen und Füßen. Betroffene Patienten weisen eine verzögerte motorische, jedoch geistig normale Entwicklung auf. Pathogenetisch spielt möglicherweise der LOH der Chromosomenregion 11p15.5 eine Rolle beim Hepatoblastom und anderen Tumoren, die mit dem Beckwith-Wiedemann-Syndrom assoziiert sind.

Das **Rhabdomyosarkom**, ein seltenes, von der quergestreiften Muskulatur ausgehendes Weichteilsarkom, kommt als embryonaler Tumor vor. Die Prognose ist ungünstig, da innerhalb von ein bis zwei Jahren häufig Rezidive auftreten können. Ein Defekt im H19-Gen verknüpft das Hepatoblastom mit

dem Rhabdomyosarkom, die genauen Zahlen dieser Verknüpfung lassen sich aus der Literatur nicht nachvollziehen, wahrscheinlich kommt er bei 29% der beiden Tumoren vor.

4.2 Wilms Tumor

Die Ergebnisse zur Genetik hinsichtlich der Pathogenese des Wilms Tumors sind wesentlich übersichtlicher als die des Hepatoblastoms. Es lassen sich sowohl veränderte Chromosomen als auch Gene eindeutig zuordnen. Manche Chromosomen und Gene, die bereits im Zusammenhang mit dem Hepatoblastom erwähnt worden sind, scheinen auch eine Bedeutung bei der Entstehung des Wilms Tumors zu haben.

Es zeigt sich erneut, dass bei der Pathogenese eines Tumors wahrscheinlich mehrere Faktoren eine Rolle spielen.

4.2.1 Chromosomen

Chromosom 1:

Im Zusammenhang mit der Entstehung eines Wilms Tumors wird der kurze Arm des Chromosom 1 (1p) erwähnt. Diese Chromosomenregion könnte einen prognostischen Faktor darstellen und das therapeutische Vorgehen beeinflussen.

Chromosom 3:

Chromosom 3 zeigt einen Verlust genetischen Materials am kurzen Arm (3p) und scheint für die Mehrzahl der triphasischen Tumoren und der Klarzelltumoren verantwortlich zu sein.

Chromosom 7:

Veränderungen des Chromosoms 7 zeigen sich vor allem bei papillären Nierentumoren.

Chromosom 11:

Auf Chromosom 11p13 befindet sich das Tumorsuppressorgen WT-1 und dessen Mutation spielt unter anderem eine Rolle bei der Entstehung des Wilms Tumors. Die Chromosomenregion 11p15 enthält ebenfalls ein embryonales Tumorsuppressorgen, das WT-2-Gen und ein Gen des Beckwith-Wiedemann-Syndroms. Dieses Syndrom prädisponiert in hohem Maße für den Wilms Tumor.

Chromosom 14:

Der lange Arm des Chromosoms 14 (14q) scheint bei den sporadisch auftretenden Nierentumoren eine Rolle zu spielen.

Chromosom 16:

Bei Chromosom 16 findet man einen Verlust der Heterogenität (LOH= loss of heterozygosity). Dieses Chromosom ist der Sitz des WT-3-Genes.

X-Chromosom:

Das X-Chromosom zeigt bei einer kleinen Untergruppe der familiären, papillären Nierentumoren Veränderungen des genetischen Materials.

4.2.2 Gene

WT-1-Gen:

Das Tumorsuppressorgen WT-1 ist auf Chromosom 11p13 lokalisiert und kodiert ein Zinkfingerbindungsprotein, das die Entwicklung der frühen Niere reguliert.

WT-2-Gen:

Das WT-2-Gen auf Chromosom 11p15 ist in der Nähe des Beckwith-Wiedemann-Genlokus und ist ebenfalls an der Pathogenese des Wilms Tumors beteiligt.

WT-3-Gen:

Der Genort des WT-3-Gens befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 16 (16q) und hat ebenfalls eine Relevanz in bezug auf den Wilms Tumor.

VHL-Gen:

Das von Hippel Lindau Gen (VHL Gen) befindet sich auf dem kurzen Arm des Chromosoms 3 (3p) und weist im Falle des Wilms Tumors eine Mutation auf. Diese Mutation betrifft zum einen familiär auftretende Nierenkarzinome, die Teil des VHL-Syndroms sind und sporadisch auftretende Nierentumoren.

c-met-Protoonkogen:

Mutationen des c-met-Protoonkogens, das auf Chromosom 7q31 lokalisiert ist, treten häufig bei papillären Nierenkarzinomen auf. Diese Mutation und Veränderungen des Chromosoms 7 scheinen Bedeutung bei der Pathogenese des Wilms Tumors zu haben.

4.2.3 Allele

Im Falle des Wilms Tumors kommt es selten zur Ausbildung von verschiedenen kongenitalen Syndromen, auf die im späteren Verlauf noch eingegangen werden soll.

Das Beckwith-Wiedemann-Syndrom, das häufig mit dem Wilms Tumor assoziiert wird, führt mit einer hohen Wahrscheinlichkeit zu einer Verdoppelung des väterlichen Allels auf Chromosom 11p15, auf dem das WT-2 Gen lokalisiert ist.

4.2.4 Verknüpfung mit anderen Erkrankungen und Tumoren

Der Wilms Tumor tritt im Zusammenhang mit dem sogenannten **WAGR-Syndrom** (siehe Abbildung 4 im Anhang) auf. Synonym für dieses Syndrom ist

auch Chromosom-11p-Syndrom; dies ist die Kurzbezeichnung für einen Symptomenkomplex mit **Wilms Tumor**, **Aniridie**, **Gonadoblastom** und **Retardierung**. Es entsteht durch Stückverlust von genetischem Material auf dem kurzen Arm des Chromosoms 11. Auf diesem Chromosomenabschnitt befindet sich das WT-1-Gen. Dieses Syndrom manifestiert sich zwischen dem 1. und 4. Lebensjahr.

Das **Denys-Drash-Syndrom** entsteht durch eine Mutation des Wilms Tumor Gens WT-1. Bei diesem Syndrom besteht ein männlicher Pseudohermaphroditismus, eine progressive Glomerulonephropathie und die Entwicklung von genitalen und urologischen Tumoren.

Das **Beckwith-Wiedemann-Syndrom** entsteht durch eine Mutation im zweiten Wilms Tumor Gen, WT-2. Über dieses Gen und dieses Syndrom ist der Wilms Tumor auch mit dem Hepatoblastom verknüpft (siehe Kapitel 4.1).

<u>GEN</u>		<u>CHROMOSOM</u>
WT1	auf	11p13
WT2	auf	11p15
WT3	auf	16q
VHL	auf	3p

Tabelle 1 Relevante chromosomale und genetische Veränderungen beim Wilms- Tumor

4.3 Retinoblastom

Die Pathogenese des Retinoblastoms ist wesentlich eindeutiger und im Hinblick auf genetische Veränderungen übersichtlicher geklärt als die der bereits aufgeführten Krankheitsbilder.

Es konnte gezeigt werden, dass zwei aufeinander folgende Mutationen an einem Gen in der Region 13q14 notwendig sind, um Tumorstadium auszulösen. Der erste „Treffer“ ist häufig eine kleinere Mutation in der Keimbahn oder einer Vorläuferzelle der späteren Zelle, aus der sich der Tumor entwickelt. Der zweite „Treffer“ findet in der somatischen Zelle statt und ist häufig eine größere Mutation (Knudsen`sche Hypothese).

Bei den erblichen Fällen des Retinoblastoms hat sich der erste Treffer bereits in der Keimbahn der Vorfahren entwickelt, es besteht also eine 50%ige Wahrscheinlichkeit, das inaktive Allel zu vererben (= autosomal-dominante Vererbung).

Dagegen liegen bei den sporadischen Formen zwei somatische Mutationen in dem betroffenen Gewebe vor. Deshalb sind bei diesen Patienten die Tumoren einseitig.

4.3.1 Chromosomen

Chromosom 13:

Das betroffene Chromosom im Falle des Retinoblastoms ist eindeutig Chromosom 13.

Die genaue Lokalisation ist 13q14, Band 4.1 bis 4.2 (13q14.1-q14.2). An dieser Stelle kommt es zu einem Verlust oder einer Deletion von genetischem Material.

4.3.2 Gene

RB-1-Gen:

Das Gen, das auf dem langen Arm des Chromosoms 13 lokalisiert ist, heißt RB-1-Gen.

Mutationen beider Allele dieses Gens führen zur Ausbildung des Retinoblastoms, durch Wechselwirkungen des entstehenden mutierten RB-1-Gens mit dem Zellzyklus. Das Retinoblastom-Gen ist ein großes Gen von etwa 180 kb Länge. Es besteht aus 27 Exons, die für ein kleines Transkript von 4.7 kb Länge kodieren.

N-myc-Onkogen:

Selten tritt beim Retinoblastom eine Veränderung des N-myc-Onkogens auf. Es wird normalerweise in normalem, fetalen Retinagewebe exprimiert.

4.3.3 Allele

Der Verlust der Funktion in beiden Allelen des RB-1-Gens führt zu der Entwicklung eines Retinoblastoms.

4.3.4 Expressionsproteine

p170:

Viele Retinoblastome exprimieren in verstärktem Maße p170, ein Glykoprotein der Zelloberfläche. Dieses Protein ist verantwortlich für eine Resistenz gegen verschiedene Medikamente. Sie besteht unabhängig davon, ob das Retinoblastom bereits chemotherapeutisch behandelt worden ist oder nicht.

p110RB1:

Das Proteinprodukt des RB-1-Gens heißt p110RB1. Es reguliert den Zellzyklus. Fehlt in der mutierten Zelle nun das normale Protein, tritt sie in die nächste Zellteilung ein, ohne die Möglichkeit zu haben, in einem inaktiven Zustand zu bleiben. Es kommt zu ungehemmtem Zellwachstum.

4.3.5 Verknüpfungen mit anderen Erkrankungen und Tumoren

Prinzipiell haben Patienten mit einer Mutation des RB-1-Gens ein erhöhtes Risiko, einen zweiten, nicht okulären Tumor zu entwickeln.

Das Retinoblastom steht in Verbindung mit dem ***Morbus Hirschsprung***. Dieses Krankheitsbild, das auch kongenitales Megakolon genannt wird, ist eine umschriebene Dickdarterweiterung mit schweren Passagestörungen. Auch hier kommt es zu einer familiären Häufung. Physiologisch tritt eine Kotstauung, infolge einer Aganglionose des Dickdarms, auf. Klinisch weisen diese Kinder schwere Obstipationszustände mit massiven Bauchauftreibungen seit dem frühen Säuglingsalter auf. Dies alles kann gegebenenfalls zu einem mechanischen Neugeborenenileus führen. Die Therapie dieser Erkrankung ist eine Operation, bei der das aganglionäre Segment entfernt wird.

Außerdem gibt es Hinweise darauf, dass das Retinoblastom eine Verbindung zum ***Ewing-Sarkom*** hat. Dieser Tumor ist ein vom Knochenmark ausgehendes Sarkom, das vor allem zwischen dem 10. und 30. Lebensjahr auftritt und häufig im Bereich der Diaphysen von Femur und Tibia, sehr selten jedoch in Humerus, Rippen oder knöchernem Becken lokalisiert ist.

Es kommt zu einer frühen hämatogenen Metastasierung v.a. in die Lungen. Auftretende Symptome sind Schmerzen, Schwellung, Fieber und mäßige Leukozytose. Die Therapie dieses Tumors erfolgt durch Strahlentherapie, Zytostatika oder evtl. eine chirurgische Behandlung.

Gesicherte Fallzahlen, auf deren Grundlage die Aussagen gemacht wurden, ließen sich nicht recherchieren.

4.4 Neuroblastom

Die molekularen Grundlagen des Neuroblastoms sind wahrscheinlich somatisch erworbene genetische Veränderungen in den Zellen, die zu Gen-Überexpression (Onkogene), Gen-Inaktivierung (Tumorsuppressorgene) oder

Varianten in der Gen-Expression führen. Außerdem scheint beim Neuroblastom ein Mechanismus vorhanden zu sein, bei dem Gene aktiviert werden, die zur Resistenz gegen die Chemotherapie beitragen.

Ein disseminiertes Neuroblastom hat eine sehr schlechte Prognose. Verantwortlich für diese Ausbreitung ist die N-myc-Genamplifizierung, die Deletion am kurzen Arm des Chromosoms 1 und zu wenig Expression des CD44-Gens.

4.4.1 Chromosomen

Chromosom 1:

Deletionen des kurzen Arms des Chromosom 1 (1p) kommen bei Neuroblastomen regelmäßig vor. Nach der internationalen Einteilung des Neuroblastoms zeigt sich beim Neuroblastom Grad 4 ein LOH der Region 1ptel bis 1p35 und 1p22. Lokal-regionale Neuroblastome haben einen Verlust in der Region 1p36. Grad 4S-Tumoren sind hyperdiploid, ohne einen Verlust von genetischem Material der Regionen 1p36 und 1p22. Der Genlocus zwischen 1p35-36.1 und 1p36.23 kodiert mit großer Wahrscheinlichkeit ein Tumorsuppressorgen der N-myc-Amplifizierung.

Chromosom 2:

Eine weitere genetische Veränderung, die beim Neuroblastom auftritt, ist die Verdoppelung des N-myc-Genes auf Chromosom 2p24.

Chromosom 11:

Auch auf Chromosom 11q23 scheint ein Tumorsuppressorgen vorhanden zu sein, das relevant für die Pathogenese des Neuroblastoms zu sein scheint.

Chromosom 14:

Chromosom 14q23-qter beherbergt ebenfalls ein Tumorsuppressorgen.

Chromosom 17:

Chromosom 17q23-pter weist im Falle des Neuroblastoms häufig eine unbalancierte Translokation auf, die in der Pathogenese dieses Tumors eine Rolle spielt.

4.4.2 Gene

N-myc- Onkogen:

Die Amplifizierung des N-myc-Onkogens auf Chromosom 2p24 findet sich bei einer Vielzahl von Patienten mit Neuroblastomen und spielt als Prognosefaktor eine erhebliche Rolle.

CD44-Gen:

Das Fehlen der CD44-Genexpression ist im Rahmen der Prognosestellung beim Neuroblastom ebenfalls wichtig.

MDM2-Gen:

Die Amplifizierung des MDM2-Gens, das auf Chromosom 12q14.3-q15 lokalisiert ist, ist eine weitere genetische Abnormalität, die zur Pathogenese des Neuroblastoms beiträgt.

4.4.3 Expressionsproteine

N-myc-Expressionsprodukt:

Das veränderte N-myc-Expressionsprodukt ist heute ein Prognosemarker, nach dem das Therapiekonzept gestaltet wird. N-myc-Genexpressionsprodukte sind assoziiert mit fortgeschrittenen Tumorstadien. Eine hohe Rate an N-myc-Expressionsprodukten hat bei älteren Kindern einen hohen Voraussagewert für einen schlechten Ausgang der Krankheit, bei Kleinkindern seltsamerweise jedoch nicht.

TRK-A:

Die TRK-A-Expression spielt ebenfalls eine Rolle, hat aber in verschiedenen Subtypen des Tumors unterschiedliche Werte. Die Kombination von hoher TRK-A-Expression ohne N-myc-Amplifizierung beim Neuroblastom hat eine gute Prognose, wohingegen N-myc-Amplifizierung bei fehlender TRK-A-Expression prognostisch einen schlechteren Ausgang hat und eine weitaus intensivere Behandlung erfordert.

4.4.4 Verknüpfung mit anderen Erkrankungen und Tumoren

Auch beim Neuroblastom spielt die Verknüpfung mit anderen Erkrankungen eine erhebliche Rolle für die Prognose des Neuroblastoms.

Syndrome, die mit dem Neuroblastom assoziiert sind, sind zum Beispiel: der **Opsoklonus**, das **Horner-Syndrom**, die **Neurofibromatose** und verschiedene **Neurokristopathien**, die jedoch keinen genetischen sondern eher einen anatomischen Zusammenhang haben.

Als **Opsoklonus** bezeichnet man kurze, schnelle Augenbewegungen in unterschiedliche Richtungen. Er tritt zum Beispiel bei Enzephalitis, beim Kinsbourne-Syndrom und als paraneoplastisches Symptom beim Neuroblastom und Bronchialkarzinom, nach Hypoxie oder Sepsis, bei Multipler Sklerose oder anderen myoklonischen und zerebellaren Syndromen auf. Er teht vermutlich in keinem Zusammenhang mit der Genetik.

Das Auftreten des **Horner-Syndroms** beim Neuroblastom ist abhängig von der Lokalisation des Tumors. Bei diesem Symptomenkomplex tritt eine Miosis, eine Ptosis und ein Enophthalmus auf. Ursachen dieses Krankheitsbildes können Läsion des N. sympathicus und der zentralen Sympathikusbahnen sein. Es steht ebenfalls in keinem Zusammenhang mit der Genetik.

Die **Neurofibromatosis generalisata** oder auch *Recklinghausen-Krankheit* ist eine autosomal-dominante Phakomatose mit schwacher Penetranz. Der

Genedefekt ist auf Chromosom 17q11.2 lokalisiert. Beim Neuroblastom findet man ebenfalls einen genetischen Defekt auf Chromosom 17, allerdings auf 17q23-qter. Klinisch treten über den ganzen Körper verteilte multiple Neurofibrome der Hautnerven auf, es kommt häufig zu Pigmentanomalien der Haut (Cafe´-au-lait-Flecken), multiplen Nävi, Knochenanomalien, Skoliose und Veränderungen des Augenhintergrundes. Neurologisch treten vor allem sensible Reizerscheinungen auf. In ca. 10% der Fälle kommt es zu einer Kombination mit einem Phäochromozytom und bei rudimentären Formen vereinzelt auch zu Tumoren an einem bzw. wenigen peripheren Nerven oder am Kleinhirnbrückenwinkel.

4.4.5 Genetische Subtypen des Neuroblastoms

Aufgrund genetischer Merkmale kann das Neuroblastom in drei Subtypen eingeteilt werden. Mittel zur Klassifizierung sind zytogenetische und molekulare Analysen.

Subtyp 1:

Der erste Subtyp hat einen hyperdiploiden oder triploiden Karyotyp, LOH des kurzen Arms von Chromosom 1 (1p) und N-myc-Amplifizierung fehlen, wohingegen die TRK-A-Expression hoch ist. Diese Patienten sind meistens Kleinkinder mit niedrigen Tumorstadien, wie zum Beispiel Stadium 1, 2 oder 4S nach dem Internationalen Neuroblastomstadieneinteilungssystem. Diese Kinder haben eine gute Prognose.

Subtyp 2:

Die zweite Gruppe repräsentieren Tumoren, die grundsätzlich einen diploiden oder tetraploiden Karyotyp haben, jedoch keine N-myc-Amplifizierung. Für gewöhnlich haben sie einen Allelverlust auf Chromosom 1p, 14 q oder andere chromosomalen Strukturänderungen. Die TRK-A-Expression ist niedrig. Diese Patienten sind

grundsätzlich älter, haben höhere Tumorstadien (Grad 3 oder 4), und einen langsam fortschreitenden Krankheitsverlauf, mit einer Heilungsrate von 25-50%.

Subtyp 3:

Die dritte Gruppe weist Tumoren mit N-myc-Amplifizierung auf, sie sind diploid oder tetraploid, mit Allelverlust von Chromosom 1p und niedriger oder fehlender TRK-A-Expression. Diese Patienten sind für gewöhnlich zwischen einem und fünf Jahren alt, mit fortgeschrittenen Krankheitsstadien und einer sehr schlechten Prognose (Heilungsrate 5 %).

Subtyp	Karyotyp	N-myc	Chromosom	TRK-A	Alter	Stadium	Prognose
1	Hyperdiploid /triploid	Keine	LOH von 1p	Hoch	1-3	Grad 1,2, 4S	Gut
2	Diploid/tetra-ploid	Keine	1p/14q	Niedrig	5-8	Grad 3, 4	Schlecht
3	Diploid/tetra-ploid	Ja	1p	Niedrig/fehlend	1-5	Fortgeschritten	Schlecht

Tabelle 2 Genetischen Subtypen des Neuroblastoms

4.5 Morbus Hirschsprung

Auch beim Morbus Hirschsprung werden mehrere Chromosomen und Faktoren in Betracht gezogen, die für die Pathogenese verantwortlich sein könnten. Die Verknüpfung zu bereits erwähnten und zu anderen Krankheiten wird bei der Betrachtung der Genetik des Hirschsprungs deutlich.

4.5.1 Chromosomen

Chromosom 2:

Chromosom 2, im besonderen der lange Arm des Chromosoms mit der Region 2, Band 2 (2q22) spielt eine Rolle dahingehend, dass dort das Protein SIP1

(smad interacting protein-1) kodiert wird, das im weiteren noch beschrieben werden soll.

Chromosom 10:

Chromosom 10q11.2 ist der Genort für das RET-Protoonkogen, das eine erhebliche Rolle bei der Pathogenese des Morbus Hirschsprung spielt. Durch eine Mutation an dieser Stelle besteht ein hohes Risiko für die Entwicklung einer Aganglionose.

Chromosom 13:

Chromosom 13 kodiert das EDNRB Gen. Mutationen an dieser Stelle können sowohl zu einem isolierten M. Hirschsprung führen oder zu einem Syndrom, dem Waardenburg-Syndrom. Die genaue Lokalisation dieses Gens ist 13q13-q22.

Chromosom 20:

Chromosom 20p hat bis jetzt keinen Hinweis darauf geliefert, dass es an der Pathogenese des M. Hirschsprung beteiligt ist. Es deuten jedoch Einzelfälle daraufhin, dass auch dieses Chromosom Gene enthält, die zu einer abnormen Entwicklung von Nervenzellen führen können.

Chromosom 21:

Chromosom 21 zeigt Veränderungen des distalen Drittels des langen Arms (21q).

X-Chromosom:

Das X-Chromosom ist im Rahmen des **BRESHECK-Syndroms** durch eine Mutation verändert. Bei dessen Entstehung spielt jedoch noch eine Deletion eines Gens oder eine Mosaikmutation eines mütterlichen autosomal-dominanten Gens eine Rolle.

4.5.2 Gene

Die Pathogenese des Morbus Hirschsprung wird von mehreren Genen bestimmt. Man spricht von den sechs „Hirschsprung-Genen“, zu denen jedoch noch neue hinzugekommen sind.

RET-Protoonkogen:

Das erste „Hirschsprung-Gen“ ist das RET-Protoonkogen (RET=Rearranged during Transfection). Es ist auf dem langen Arm des Chromosoms 10, genauer auf 10q11.2, lokalisiert. Es kommt zu einer Keimbahnmutation des RET-Protoonkogens, die verschiedene Exone des Gens betreffen kann. Es wurden acht unterschiedliche Mutationen gefunden, die die Exone 1, 7, 10, 12, 15, 17 verändert haben. Mutationen dieses Gens sind verantwortlich in 50% der Fälle bei familiär auftretendem Hirschsprung und zu 15% bei sporadisch auftretenden Fällen. Durch dieses Gen kann sowohl ein langstreckiger als auch ein kurzstreckiger Hirschsprung auftreten.

EDN3-Gen:

Das zweite Gen, das bei der Pathogenese des Hirschsprungs eine Rolle spielt, ist das EDN3-Gen (Endothelin 3). Eine Mutation dieses Gens führt zu einem kompletten Fehlen des EDN3-Proteins, das Auswirkungen auf Neurone hat, auf die später noch eingegangen werden soll.

EDNRB-Gen:

Das EDNRB-Gen (Endothelin B receptor) ist das dritte Gen, das an der Pathogenese des Morbus Hirschsprung beteiligt ist. Dieses Gen kodiert einen Transmembranrezeptor, dessen Ligand das Endothelin3 ist und liegt auf Chromosom 13q22.

GDNF-Gen:

Das vierte Gen der sogenannten „Hirschsprung-Gene“ ist das GDNF-Gen (Glial-cell-line-derived neurothropic factor). Dieses Gen kodiert den Liganden der RET-Signalkette. Veränderungen in der GDNF-Produktion stören dieses

System und dessen Signalübertragung, die eine Rolle bei der Migration und Differenzierung der enteralen Ganglienzellen spielt.

ECE1-Gen:

Das fünfte Gen heißt ECE1-Gen (Endothelin converting enzyme). Es spielt ebenfalls eine Rolle in der oben bereits erwähnten Signalübertragungskette.

SOX10-Gen:

Das SOX10-Gen ist das sechste Gen. Dieses Gen kodiert den Sry-verwandten Transkriptionsfaktor SOX10.

SIP1-Gen:

Ein weiteres Gen, das eine Form des Morbus Hirschsprung verursacht, ist das SIP1-Gen (Smad interacting protein-1). Es ist auf Chromosom 2q22 lokalisiert. Veränderungen in diesem Gen scheinen zu einem mit Hirschsprung assoziierten Syndrom zu führen.

4.5.3 Expressionsproteine

Die in Kapitel 4.5.2 besprochenen Gene kodieren Proteine, die für die Migration und Differenzierung von enteralen Ganglienzellen, Sympathikusneuronen und Melanozyten oder die Signalübertragung in diesen verschiedenen Prozessen verantwortlich zu sein scheinen.

Transmembranrezeptor des RET-Gen:

Das RET-Gen kodiert einen Transmembranrezeptor, der in oben erwähnte Mechanismen involviert ist.

GDNF:

GDNF ist der Ligand des RET. Beim Morbus Hirschsprung ist der GDNF-Spiegel erniedrigt, und es kommt zu einer Unterbrechung der Signalübertragung mittels RET.

EDN3:

EDN3 ist ebenfalls beteiligt an der Migration und Differenzierung von Ganglienzellen des Darms. Bei kurzstreckigem Hirschsprung ist EDN3 herunterreguliert. Bei einer Mutation des zugehörigen Gens kommt es zu einem kompletten Fehlen des EDN3-Proteins.

EDNRB:

Das EDNRB-Protein ist ebenfalls ein Transmembranrezeptor, dessen Funktionsverlust eine Fehlentwicklung der Zellen zur Folge hat, die von der Neuralrinne ausgehen. Der Ligand dieses Rezeptors ist das Endothelin3 (EDN3).

ICAM-1 und MHCII-Antigen:

In den vom Hirschsprung betroffenen Darmabschnitten findet man, eine hohe Expression von ICAM-1 (Intercellular adhesion molecule-1) und MHCII-Antigen (Major histocompatibility complex II), was auf eine Immunantwort bei der Pathogenese des Morbus Hirschsprung hinweist.

Nidogen:

Nidogen, ein Glycoprotein, ist notwendig für die Bildung von Bindungskomplexen, die mit anderen Basalmembran-Komponenten (Laminin und Kollagen Typ IV) eine Verbindung eingehen. Das Fehlen dieses Proteins scheint beteiligt an der Pathogenese zu sein.

4.5.4 Verknüpfungen mit anderen Erkrankungen und Tumoren

Das **Retinoblastom** (siehe Abb. 4 im Anhang), das in Kapitel 4.3 bereits besprochen wurde, ist ein von der undifferenzierten Retina ausgehender Tumor des frühen Kindes- und Säuglingsalters in einem oder beiden Augen.

Dieser Tumor ist mit einer Häufigkeit von 1: 12.000 der häufigste Tumor dieser Altersgruppe. Das normale Genprodukt hat die Funktion, DNA zu binden und den Zellzyklus am Übergang von der G1- in die S-Phase zu kontrollieren.

Kommt es nun zu einem Funktionsverlust in beiden Allelen des Gens, entsteht ein Tumor. Das Retinoblastom tritt in einer erblichen (Keimzellmutation) und einer nicht-erblichen Form (somatische Mutation) auf.

Der Locus für das Retinoblastom (RB-1) liegt in Region 1, Band 4.1 bis 4.2 (13q14.1-14.2) in der proximalen Hälfte des langen Arms von Chromosom 13. Dieses Chromosom wird auch im Falle des Morbus Hirschsprung erwähnt. Die Region 1, Band 3 bis Region 2, Band 2 wird in Betracht gezogen, an der Pathogenese des Morbus Hirschsprung beteiligt zu sein. Das EDNRB-Gen ist auf Chromosom 13q22 lokalisiert und ist nachweislich an der Entstehung der Krankheit beteiligt.

Die **multiplen endokrinen Neoplasien (MEN)** (siehe Abb.4 im Anhang) sind gekennzeichnet durch das zeitlich unabhängige Auftreten endokriner, zum Teil maligner Tumoren. Man unterscheidet verschiedene Typen: beim MEN 1 (Werner-Syndrom) besteht ein Hypophysen-Adenom, ein primärer Hyperparathyreoidismus und ein Pankreastumor, bei MEN 2a (Sipple-Syndrom) haben alle Patienten ein medulläres Schilddrüsenkarzinom, und bei etwa 75% der Fälle tritt zusätzlich noch ein Phäochromozytom und Hyperparathyreoidismus auf. Charakteristisch für MEN 2b sind neben dem familiären Schilddrüsenkarzinom und Phäochromozytom neurokutane Veränderungen wie eine Neuroangliomatose sowie ein marfanoider Habitus. Das MEN-1-Gen liegt auf dem Chromosom 11q13 und das MEN-2-Gen auf Chromosom 10q11. Mutationen, die bei MEN 2a auftreten, betreffen den extrazellulären zystinreichen Teil des RET-Protoonkogens. Es wird ein einzelnes Nukleotid ausgetauscht. Beim MEN 2b-Syndrom wird eine Punktmutation in der intrazellulären Tyrosinkinase-Domäne des RET-Protoonkogens beobachtet. Die multiplen endokrinen Neoplasien werden autosomal-dominant vererbt.

Das RET-Protoonkogen ist nun ebenfalls eines der „Hirschsprung-Gene“, es liegt nun die Vermutung nahe, dass Patienten mit Morbus Hirschsprung-Erkrankungen ein erhöhtes Risiko für multiple endokrine Neoplasien und umgekehrt haben. Es kommt jedoch nicht oft zu dieser Konstellation.

Das **familiäre medulläre Schilddrüsenkarzinom** (FMTC= familial medullary thyroid carcinoma) ist eventuell assoziiert mit dem Sipple-Syndrom und ist mit hoher Wahrscheinlichkeit ebenfalls genetisch determiniert. Der Zusammenhang zwischen dieser Erkrankung und dem Hirschsprung besteht über das RET-Protoonkogen.

Das **Waardenburg-Syndrom** ist eine autosomal-dominant vererbte Erkrankung mit variabler Expressivität. Symptome dieses Syndroms sind Innenohrschwerhörigkeit, Ektodermaldysplasie, Piebalismus, okuläre Anomalien (Lateralverlagerung der inneren Augenwinkel und Tränenpünktchen bei normalem Pupillenabstand, Heterochromie der Iris) und weitere Dysplasien. Es gibt zwei Typen dieses Syndroms, wobei Typ II die oben aufgezählten Symptome in geringerer Ausprägung aufweist und es zu keiner Verlagerung der Augenwinkel kommt.

Es wurden Kombinationen des Waardenburg-Syndroms mit Morbus Hirschsprung (Sha-Waardenburg-Syndrom= Waardenburg Typ 2 und Hirschsprung-Phänotyp) beobachtet, bei denen es zu einer Mutation des EDN3 Gens, einem der Liganden des EDNRB, gekommen ist.

Das **Goldberg-Shprintzen-Syndrom** beinhaltet eine Aplasie oder Hypoplasie des Thymus und der Parathyroidea, ein zellulärer Immundefekt, eine Hypothyreose, ein Herzfehler, eine Lippen-Gaumen-Uvula-Spalte, ein dysmorphes Gesicht und mentale Retardierung. Die Lokalisation des Gendefektes befindet sich auf Chromosom 22, es kommt zu einer Mikrodeletion: del(22q11.21-q11.23). Dieses Syndrom tritt ebenfalls in Kombination mit dem Morbus Hirschsprung auf. Die genetische Verbindung dieser beiden Erkrankungen ist noch nicht geklärt.

Autismus tritt in wenigen Fällen im Zusammenhang mit dem Morbus Hirschsprung auf. Die Frage ist, ob hier ein wirklicher Zusammenhang besteht. Bei einem Patienten mit dieser Kombination wurde eine Deletion des Chromosoms 20p11.22-p11.23 gefunden. Es wird vermutet, dass diese Region

Gene beinhaltet, die durch Mutation ein abnorme neuronale Entwicklung zur Folge haben.

Das **BRESHECK-Syndrom** (brain, retardation, ectodermal dysplasia, skeletal deformities, Hirschsprung disease, ear/eye anomalies, cleft palate/cryptorchidism, and kidney dysplasia/hypoplasia) scheint durch eine Mutation des X-Chromosoms verursacht zu werden, wobei eine Deletion eines Genes und eine Mosaikbildung eines autosomal-dominanten Genes der Mutter mit in Betracht gezogen werden muss.

4.6 Tabellarische Zusammenfassungen

Nachfolgend stehen die Zusammenfassungen der Ergebnisse in tabellarischer Form aus der Literaturrecherche mit Nennung der Autoren, der Fallzahlen und der genetischen Veränderungen als Basis für die folgende Diskussion:

Autor	Fallzahl	Genetische Veränderungen
Balogh et al. [5]	Keine Angaben	Trisomie 2q21-qter
Balogh et al. [6]	1	Partielle Trisomie 2 durch Insertion in das Ch. 9, Kritische Region 2q21 und 2qter
Bove et al. [8]	1	Trisomie 18, Duplikation des langen Arms des Ch. 2(2q)
Gray et al.[30]	18	Verlust an genetischem Material auf Ch. 1q24-q25, 13q21-q22 (28%), Gewinn an genetischem Material auf Ch. 2q23-q24 (33%) Ch. 9p22-pter (22%), Ch 20q (28%)
Hartmann et al. [35]	Keine Angaben	LOH des Ch. 11p15.5
Hu et al. [37]	10	Gewinn an genetischem Material auf 1q32, Trisomie 2,

		Zuwachs an genetischem Material auf Ch. 2q24, 17 (4 Fälle), Ch. 20 (3 Fälle), Translokation des Ch. 4, Verlust von genetischem Material auf Ch. 4, Ch. 11, Trisomie 20
Kraus et al. [45]	32	LOH Ch. 1 (2Fälle), LOH Ch. 1p (7Fälle), LOH Ch. 1q (7 Fälle), LOH Ch. 1q u. 1p (3 Fälle), LOH Ch. 11p (33%)
Ma et al. [49]	2	Unbalancierte Translokation der(4)t(1;4)(q12;q34), Gewinn an genetischem Material auf Ch. 5, add(5)(q31)
Nagata et al. [60]	2	Numerische Aberration von Ch. 1q21 und 1q32, Unbalancierte Translokation des Ch. 2q23 und Ch. 6q27, Partielle Trisomie 2, Trisomie 8, Numerische Aberrationen des Ch. 2, Bruchstellen auf Ch. 2q, der(7)t(2;7)(q23;p22), Ch. 21p12, Partielle Monosomie von Ch. 21p
Parada et al. [64]	Keine Angaben	Neuanordnung der Gene auf Ch. 1, Überrepräsentation von Ch. 2-Material, Trisomie 2, Trisomie 8, Trisomie 20
Pietsch et al. [67]	1	Strukturelle und numerische Aberrationen von Ch. 1p, Ch. 6, Ch. 9, Ch. 11q, Ch. 13q, Ch. 15p, Ch. 20, LOH des Ch. 11p
Sainati et al. [73]	9	6 genetische, nicht näher bezeichnete Veränderungen, 4 davon ein verändertes Chromosom 1
Simms et al. [81]	Keine Angaben	LOH des Ch. 11p15.5
Steenman et al. [83]	16	Gewinn an genetischem Material auf Ch. 2, Ch. 17q, Abnormalitäten auf Ch. 7q und Ch. 8q
Steenman et al. [84]	2	11 Veränderungen von 1p, Abnormalitäten des Ch. 11

Weber et Pietsch et al. [92]	34	<p>Gewinn an genetischem Material Ch. 1q (41%), Ch. 2q (44%), 2p (29%), 7q (6%), 8q (15%), 8p (9%), 17 (6%), 20 (24%), 22q (18%),</p> <p>Amplifizierte Sequenzen auf Ch. 2q24, Ch. 7,</p> <p>Verlust an genetischem Material auf 4q(21%), 12q (9%), 12p (6%)</p> <p>Amplifizierte Sequenzen auf Ch. 10q24-q26 (1 Fall),</p> <p>LOH des Ch. 11p</p>
------------------------------	----	--

Tabelle 3 Zusammenfassung der betroffenen Chromosomen beim Hepatoblastom

Autor	Fallzahl	Genetische Veränderung
Akmal et al. [1]	11	IGF-2 und IGFBP-2 Transkripte
Bader et al. [4]	3	Erhöhte MDR1-Genexpression, Erhöhte mu(GSTmu)-Genexpression, Niedriger Topoisomerase IIa-Spiegel
Fukuzawa et al. [26]	8	Inaktivierung der Genexpression des H19-Gens (7 Fälle), LOI des IGF-2-Gens
Giardiello et al. [28]	8	Mutationen des APC-Gens(100%)
Hartmann et al. [35]	61	LOH des KIP2-Locus (25%), keine Mutationen
Iolascon et al. [39]	14	Unveränderte CDKN2A-, CDKN2B- und CDKN2C-Gene
Jeng et al. [40]	9	Nukleäre Expression des Beta-catenins, Mutationen des Exon 3 des Beta-catenin-Gens (89%) : 5 Deletionen, 3 missense Mutationen, Mutationen des APC-Gens
Koch et al. [43]	55	Mutationen des Exon 3 des Beta-catenins (48%)
Kusafuka et al. [46]	82	Keine Mutationen des p53-Gen
Li et al. [47]	3	Herabregulierung des P1 Promotors, Heraufregulierung des P2 und P3 Promotors, LOI des IGF-2, Reduktion der H19-Expression
Oda et al. [62]	13	Somatische Mutationen (61,5%), LOH oder somatische Mutationen des APC-Gens (9 Fälle), Doppelmutationen (2 Fälle)

		Missense Mutationen (9 Fälle), Frame-shift-Mutationen
Oda et al. [63]	10	9 somatische Mutationen des p53-Gen, 8 Punktmutation auf Codon 157, 2 missense-Mutationen auf Codon 244, 1 auf Codon 273, 1 auf Codon 279, 3 doppelte missense-Mutationen
Park et al. [66]	30	4 missense-Mutationen des Beta-catenin-Gens (13,3%), Hohe Immunoreaktivität des Beta-catenins im Zytoplasma und/oder Nukleolus (97%), Signifikant höhere Färbung des Beta-catenins im Nukleolus bei embryonalen oder undifferenzierten Tumoren
Pietsch et al [67]	1	LOH aller informationstragenden Loci des WT-1-Gens und des IGF-2-Gens
Ranier et al. [70]	5	Transkribierter Polymorphismus des IGF-2-Gens, LOI von H19 und IGF-2 (1 Fall)
Ross et al. [72]	30	Monoallele Expression von H19, Allelspezifische Expression des IGF-2
Von Horn et al. [90]	Keine Angaben	Zerstörung der IGF-Achse
Weber et Pietsch et al. [92]	10	Beta-catenin-Genmutationen (50%)
Wei et al. [93]	18	Missense Mutationen und Deletionen des Beta-catenin- Gens (67%), Nukleäre und zytoplasmatische Anhäufung des Beta- catenins
Yun et al. [97]	Keine exakten Angaben	Promotorspezifisches Imprinting des IGF-2-Gen, Biallele Expression des P1-Promotors, Monoallele Expression des P2-P4 Promotors
Zerbini et al. [98]	30	Überexpression von p53

Tabelle 4 Zusammenfassung der betroffenen Gene beim Hepatoblastom

Autor	Fallzahl	Genetische Veränderungen
Erzsebet et al. [23]	1	Deletion des Ch. 11p13 (del(11)(p13))
Feinberg [24]	Keine Angaben	Multiple genetische Abnormalitäten des Ch. 11p15

Fleming [25]	Keine Angaben	Verlust an genetischem Material des Ch. 3p und Ch. 14q, Veränderungen des Ch. 7 und des X-Ch., WT-1-Gen auf Ch. 11p13
Tamaro [85]	Keine Angaben	Prognostische Aussagekraft des Ch. 16q (LOH) und 1p
Wiener et al. [96]	Keine Angaben	1p und 16q als Prognosefaktor, Ch. 11p13 mit dem Tumorsuppressorgen WT-1

Tabelle 5 Zusammenfassung der betroffenen Chromosomen beim Wilms Tumor

<i>Autor</i>	<i>Fallzahl</i>	<i>Genetische Veränderungen</i>
Fleming [25]	Keine Angaben	WT-1-Gen, WT-2-Gen, VHL-Gen (3p), Mutation des c-met-Protoonkogens
Tay [86]	Keine Angaben	WT-2-Gen (11p15), WT-3-Gen (16q)
Wiener [96]	Keine Angaben	WT-1-Tumorsuppressorgen (11p13)

Tabelle 6 Zusammenfassung der betroffenen Gene beim Wilms Tumor

<i>Autor</i>	<i>Fallzahl</i>	<i>Genetische Veränderungen</i>
Cohen [19]	Keine Angaben	Verlust oder Deletion genetischer Informationen auf Ch. 13q
Mitchell [56]	Keine Angaben	Ch. 13q14 (RB-1-Gen)
Munier et al. [59]	13	Mosaik von del(13)8q14.1 ;q14.3)
Weigel et al. [94]	1	Deletion von Ch. 13q (q13→q22)
Weinberg [95]	Keine Angaben	Ch. 13q14 (RB-1-Gen)

Tabelle 7 Zusammenfassung der betroffenen Chromosomen beim Retinoblastom

Autor	Fallzahl	Genetische Veränderungen
Gallie et al. [27]	Keine Angaben	Mutation des RB-1-Gens, Amplifikation des N-myc- Onkogens
Kostyk et Pietrzyk [44]	Keine Angaben	Mutation beider Allele des RB-1-Gens
Lueder et Smith [48]	Keine Angaben	Mutationen des RB-1-Gens Keimzellmutationen
Minoda [55]	33	Keimzellmutationen (22 Fälle)
Weinberg [95]	Keine Angaben	Mutationen beider Kopien des RB-1-Gens

Tabelle 8 Zusammenfassung der betroffenen Gene beim Retinoblastom

Autor	Fallzahl	Genetische Veränderungen
Bordow et al. [9]	60	Hohe TRK-A-Expression → hoher Tumorigrad Hohe TRK-A-Expression → niedrige Lebenserwartung
Brodeur et al. [12]	Keine Angaben	Allelverlust auf 1p36 und 14q32, N-myc-Amplifikation, NGFR-Weg
Brodeur et al. [13]	Keine Angaben	Hyperdiploider Karyotyp und hohe TRK-A-Expression → gute Prognose, Diploide DNA, Verlust des Allels von 1p oder andere strukturelle Veränderungen, niedrige TRK-A-Expression → mittelmäßige Prognose, N-myc-Amplifizierung, 1p Allelverlust, niedrig oder fehlende TRK-A-Expression → sehr schlechte Prognose
Brodeur[11]	Keine Angaben	1) hyperdiploider oder triploider Karyotyp, kein LOH von 1p, keine N-myc-Amplifikation, hohe TRK-A-Expression, Prognose günstig, 2) Diploider oder tetraploider Chromosomensatz, keine N-myc-Amplifikation, Allelverlust des Ch. 1p und 14q oder andere strukturelle Veränderungen, niedrige TRK-A-Expression, mittelmäßige Prognose, 3) N-myc-Amplifikation, diploider oder tetraploider Karyotyp, Allelverlust von 1p, niedrige oder fehlende TRK-A-Expression, schlechte Prognose
Da Silva et al. [20]	Keine Angaben	Deletion des Ch. 1p

		Amplifikation des N-myc-Gens, Fehlen des CD44-Gens
Girgert et al. [29]	Keine Angaben	N-myc-Amplifikation, Deletion des Ch.1p36, Ploidität und TRK-A-Expression
Harms [34]	Keine Angaben	Strukturelle Veränderungen des Ch. 1, double minute-Chromosom, N-myc-Amplifikation, Diploide DNA
Maris et Matthay [51]	Keine exakten Angaben	Überexpression von Genen Geninaktivierung, Veränderungen in der Genexpression, Amplifikation des N-myc-Protoonkogens, Zuwachs an genetischem Material auf Ch. 17q23-qter, Tumorsuppressorgene auf Ch. 1p36 (30%), Ch. 11q23 (44%), Ch. 14q23-qter (22%), Veränderungen der Neurotrophin-Expression
Mora et al. [57]	120	Deletion von Ch. 1p, LOH auf zwei verschiedenen Regionen von Ch. 1p, LOH Ch. 1ptel-1p35 (55%), 1p22 (56%), 1p36, Verlust an genetischem Material auf Ch. 1p36 (42%)
Sawada et al. [74]	Keine Angaben	Veränderungen des Ch. 1p (Prognosefaktor), N-myc-Amplifikation, TRK-A-Überexpression
Schwab [77]	Keine Angaben	Amplifikation des N-myc-Onkogens
Schwab et al. [76]	Keine Angaben	Amplifikationen des N-myc-Gens, Veränderungen des Ch. 1p, Verdoppelung des N-myc-Gens auf Ch. 2p24, Amplifikation des MDM2-Gens
Tschuida et al. [89]	Keine Angaben	Deletion des Ch. 1p, N-myc-Amplifikation, Expression des bcl-2 Proto-Onkogen, Expression von Ha-ras und TRK-A-Expression

Tabelle 9 Zusammenfassung der betroffenen Chromosomen und Gene beim Neuroblastom

Autor	Fallzahl	Genetische Veränderungen
Attie et al. [2]	Keine Angaben	RET-Protoonkogen auf Ch. 10, EDNRB-Gen auf Ch. 13, homozygote Mutationen bei Hirschsprung assoziiert mit Waardenburg Syndrom, heterozygote Mutationen bei isoliertem Hirschsprung, Mutation des EDN3-Gens, RET-Gen auf Ch. 10, EDNRB auf Ch. 13, Homozygote Mutation des EDN3
Auricchio et al. [3]	17	RET-Protoonkogen auf Ch.11.2, missense Mutationen des EDNRB-Gens auf Ch. 13q22, Deletion auf Ch. 13q22
Griseri et al. [31]	92	T-Allelverlust
Inoue et al. [38]	15	RET-Mutationen der Exons 1, 7, 10, 12, 15, 17 (10 Fälle)
Kenny et al. [41]	10	Reduzierte EDN3 mRNA-Spiegel (7 Patienten), Sequenzvarianten bei EDN3 und EDNRB
Kobayashi et al. [42]	26	Starke Expression von ICAM-1- und MHC II-Antigen in hypertrophischen Nervensträngen
Martucciello et al. [52]	Keine Angaben	RET-Protoonkogen auf Ch. 10q11.2
Martucciello et al. [53]	Keine Angaben	RET-Protoonkogen, EDN3-Gen, EDNRB-Gen, GDNF-Gen, ECE1-Gen, SOX10-Gen
Michaelis et al. [54]	1	Interstitielle Deletion des Ch. 20p11.2-p11.23
Mowat et al. [58]	6	Deletion des Ch. 2 (del(2)(q21;q23))
Parikh et al. [65]	Keine Angaben	Signifikant niedrigere Nidogen mRNA-Spiegel im hirschsprungbetroffenen Darm
Que et Puri [69]	14	Konstante EDN3 und EDNRB mRNA-Expression im normalen Kolon, Erniedrigte EDN3- und EDNRB-mRNA-Expression bei 2 Hirschsprung Patienten im aganglionären und ganglionären Teil, bei 6 erniedrigte EDN3-mRNA-Expression aganglionären und bei 2 erniedrigte EDNRB-mRNA-Expression im ganglionären Teil
Seri et al. [78]	39	7 neue Mutationen des RET-Protoonkogens

Shimotake et al. [79]	5	RET-Protoonkogen auf Ch. 10q11.2, Keimzellmutationen der Tyrosinkinasezeptordomäne (3 Fälle)
Sijmons et al. [80]	60	MEN2A-typische RET-Mutation (3 Fälle), RET-Mutationen (22 Fälle)
Staiano et al. [82]	17	Mutation des RET-Protoonkogens (1 Fall)
Wakamatsu et al. [91]	1	Deletion des Ch. 2q22, SIP1-Gen
Weigel et al. [94]	1	Interstitielle Deletion des Ch. 13q (q13→q22)
Zhan et al. [99]	15	Niedriges Signal der RET-mRNA bei Aganglionose, Hohe Immunoreaktivität des GDNF

Tabelle 10 Zusammenfassung der betroffenen Gene und Chromosomen beim Hirschsprung

Autor	Assoziiertes Syndrom oder Tumor	Genetische Veränderungen
Steenman et al. [84]	Beckwith-Wiedemann-Syndrom	Veränderungen Ch. 11 und Ch.1p
Giardiello et al. [29]	FAP	Keimzellmutation des APC-Gens (Codons 141 bis 1230)
Oda et al. [63]	FAP	Somatische Mutationen des APC-Gens
Steenman et al. [83]	Wilms Tumor	Veränderungen der Ch. 7q, 8q und 17q
Pietsch et al. [67]	Wilms Tumor	LOH aller informationstragenden Loci des Ch. 11p, einschließlich WT-1 und IGF2
Rainier et al. [70]	Wilms Tumor	LOI des IGF2-Gens bei 70% und LOI des H19-Gens bei 29% der Wilms Tumoren

Tabelle 11 Zusammenfassung der Korrelationen mit dem Hepatoblastom

5 DISKUSSION

5.1 Mechanismen der Tumorentstehung, wie sie aus der Literaturrecherche abgeleitet werden können

5.1.1 Hepatoblastom

Nach der Literaturrecherche und dem Ordnen der umfangreichen oft widersprüchlichen Ergebnisse wird deutlich, dass die Pathogenese des Hepatoblastoms ein multifaktorielles Geschehen ist. Sowohl Veränderungen mehrerer Chromosomen als auch Veränderungen von Genen und Expressionsproteinen tragen zur Entstehung des Hepatoblastoms bei. Zunächst soll mit markanten und gesicherten Literaturergebnissen zur Art der Veränderungen der Chromosomen und Gene Stellung genommen werden, wobei die Aussagen besonders mit den berichteten Patientenkollektiven korreliert werden, um ihre Relevanz zu unterstreichen.

5.1.1.1 Chromosomen

Chromosom 1:

Steenman et al. [84] untersuchten Zellen eines Wilms Tumors und Zellen eines Rhabdomyosarkoms, die neben dem Hepatoblastom mit dem Beckwith-Wiedemann-Syndrom assoziiert sind und kamen zu der Schlussfolgerung, dass der kurze Arm des Chromosoms 1 (1p) und 11 bei sporadisch auftretenden Tumoren des Kindesalters Abnormalitäten aufweisen.

Sainati et al. [73] karyotypisierten neun Hepatoblastome aus einer multizentrischen Studie über Lebertumore (SIOPEL 1), wovon sechs genetische Abnormalitäten, am häufigsten Trisomien der Chromosomen 2 und 20 aufwiesen und vier davon ein verändertes Chromosom 1.

Kraus et al. [45] haben bei zytogenetischen Untersuchungen in 10 Fällen chromosomale Aberrationen des kurzen Armes des Chromosoms 1 (1p)

gefunden. Diese Forschungsgruppe untersuchten 32 Hepatoblastome mit der PCR und kam zu folgenden Ergebnissen:

LOH des Chromosoms 1 wurde in zwei Fällen gefunden, sieben Hepatoblastome zeigten einen LOH auf dem kurzen Arm des Chromosoms 1 (1p), sieben hatten eine LOH auf dem langen Arm des Chromosoms 1 (1q) und drei einen LOH sowohl auf dem langen als auch auf dem kurzen Arm des Chromosoms 1. Sie schließen aus ihren Ergebnissen, dass sich ein Tumorsuppressorgen auf der Telomerregion des kurzen Armes von Chromosom 1 (1p) befinden muss und verschiedene Regionen auf dem langen Arm des Chromosoms 1 (1q) bei der Pathogenese des Hepatoblastoms beteiligt sein könnten.

Pietsch et al [67] verwendeten Zelllinien, die phänotypische und genotypische Charakteristika des Primärtumors aufwiesen und nach zytogenetischen Analysen strukturelle und numerische Aberrationen unter anderem des kurzen Armes des Chromosoms 1 (1p) zeigten.

Nagata et al. [60] untersuchten zwei fetale Hepatoblastome, die mit Änderungen des Karyotypes einhergingen. Die Ergebnisse zeigten unter anderem numerische Aberrationen des Chromosoms 1, vor allem Regionen auf dem langen Arm: 1q21 und 1q32.

Hu et al. [37] verwendeten die vergleichende Genomhybridisierung bei der Analyse von 10 Hepatoblastomen. Die häufigste Abnormalität war der Gewinn an genetischem Material, bei insgesamt sechs von 10 Tumoren auf dem langen Arm des Chromosoms 1, im besonderen war die Region 1q32 betroffen.

Parada et al. [64] vermuteten auf dem langen Arm des Chromosoms 1 ein für die Pathogenese des Hepatoblastoms wichtiges Gen. Sie kamen nach der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) zu der Schlussfolgerung, dass unter anderem die Neuaneordnungen der Gene auf dem langen Arm des Chromosom 1 zur Pathogenese beitragen müssen.

Weber et al. [92] untersuchten 34 Hepatoblastome und drei Zelllinien mit der Genhybridisierung. Am häufigsten war auch der Gewinn an genetischem Material des Chromosoms 1q mit 41% festzustellen.

Gray et al. [30] verwendeten die vergleichende Genomhybridisierung um 18 Hepatoblastome von Europäern und Japanern zu untersuchen, um dem genetischen Hintergrund dieser malignen Erkrankung näher zu kommen.

Bei den häufigsten Verlusten an genetischem Material fiel neben anderen wieder die Chromosomenregion 1q24-q25 mit immerhin 28% auf. Sie kamen zu der Schlussfolgerung, dass auf den gefundenen Regionen Tumorsuppressorgene und Onkogene sein müssten, die bei der Tumorphathogenese des Hepatoblastoms verschiedener ethischer Gruppen beteiligt sein könnten.

Chromosom 2:

Weber et al. [92] kamen in ihrer oben bereits erwähnten Untersuchung zu dem Ergebnis, dass der lange Arm des Chromosoms 2 (2q) mit 44% den häufigsten Zugewinn und der kurze Arm des Chromosoms 2 (2p) mit 29% den dritthäufigsten Zugewinn an genetischem Material aufgewiesen haben. Stark amplifizierte Sequenzen wurden in zwei Tumoren identifiziert und auf Chromosom 2 auf der Region 2q24 kartiert.

Gray et al. [30] fanden in ihrer ebenfalls schon beschriebenen Studie den höchsten Zuwachs an genetischem Material auf der Chromosomenregion 2q23-q24 (33%).

Parada et al. [64] entdeckten in zwei Hepatoblastomen eine Überrepräsentation von Chromosom 2-Material. Diese Forschungsgruppe kam unter anderem zu dem Schluß, dass die Trisomie 2 bei der Ausbildung eines Hepatoblastoms eine gewisse Rolle spielt.

Hu et al. [37] fanden in ihren Untersuchungen als häufigste Anomalie die Trisomie des Chromosoms 2. An diesem Chromosom fiel auch der zweithäufigste Zuwachs an genetischem Material auf, im besonderen die Region 2q24.

Steenman et al. [83] untersuchten 16 Hepatoblastome mit der vergleichenden Genomhybridisierung. Ihre Ziele waren, zum einen quantitative Chromosomenanomalien zu identifizieren, die bei dieser Tumorart auftreten und zum anderen diese Ergebnisse mit Daten ähnlicher Studien zu vergleichen, die

sich mit Tumoren, die mit dem Beckwith-Wiedemann-Syndrom assoziiert sind, beschäftigten. Auch in diesen Ergebnissen ist vom Gewinn an genetischem Material des Chromosoms 2 die Rede.

Nagata et al. [60] beschreiben zwei fetale Hepatoblastome, bei einem 17-Monate-alten Jungen mit zahlreichen unbalancierten Translokationen, unter anderem der Chromosomenregion 2q23 und partielle Trisomie des Chromosoms 2.

Im anderen Fall handelte es sich um ein vier Jahre altes Mädchen, dessen karyotypische Analysen neben der Trisomie des Chromosoms 8 auch eine des Chromosoms 2 ergaben. Numerische Abnormalitäten des Chromosoms 2 und Bruchstellen auf dem langen Arm des Chromosoms 2 (2q) schienen neben anderen Veränderungen zu der Pathogenese des Hepatoblastoms beizutragen.

Balogh et al. [6] führten sowohl FISH als auch konventionelle Chromosomenanalysen an einem Hepatoblastom durch. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass eine partielle Trisomie des Chromosoms 2 durch eine Insertion in das Chromosom 9 entstanden war. Sie vermuteten, dass die kritische Region bei der Trisomie 2 zwischen der Region 2q21 und 2qter liegt.

In einer früheren Arbeit von **Balogh et al. [5]** kamen die Autoren bereits zu demselben Schluss: die Trisomie 2q21-qter spielt beim Hepatoblastom eine Rolle.

Der Fall eines 26-monatigen Mädchens mit Trisomie 18 wurde von **Bove et al. [8]** beschrieben. Dieses Kind verstarb durch multiple Metastasierung, nach der Resektion des Hepatoblastoms. Bei der Karyotypisierung des Tumors fielen unter anderem die Duplikation des langen Arms des Chromosoms 2 (2q) auf.

Chromosom 4:

Hu et al. [37] fanden bei zytogenetischen Untersuchungen von 10 Hepatoblastomen in einem Fall eine Translokation des Chromosoms 4. Sie untersuchten das Tumormaterial mittels der vergleichenden Genomhybridisierung und fanden einen Verlust an Genmaterial auf Chromosom 4 bei zwei Tumoren, wobei dies am wenigsten häufig auftrat.

Weber et al. [92] stellten bei 34 untersuchten Hepatoblastomen einen wiederkehrenden Verlust von genetischem Material in 12% der Fälle alleine am langen Arm des Chromosoms 4 (4q) fest.

Ma et al. [49] untersuchten zwei Hepatoblastome auf zytogenetische Abnormalitäten. Eines zeigte eine unbalancierte Translokation der Form der(4)t(1;4)(q12;q34). Sie erwähnen weiterhin vier bekannte Fälle mit derselben Translokation.

Chromosom 5:

Ma et al. [49] fanden bei zwei ihrer untersuchten Hepatoblastome ein Hinzufügen von genetischem Material auf Chromosom 5: add(5)(q31).

Chromosom 6:

Nagata et al. [60] beschreiben Veränderungen des Karyotypes bei zwei fetalen Hepatoblastomen. Im Fall eines 17-Monate alten Jungen zeigten sich zahlreiche unbalancierte, chromosomale Translokationen, von denen unter anderem auch die Chromosomenregion 6q27 betroffen ist.

Pietsch et al [67] explantierten Tumorgewebe von menschlichen Hepatoblastomen, um Zelllinien zu züchten. Sie erhielten eine kontinuierliche Zelllinie (HepT1), die durch immunhistochemische, elektronenmikroskopische, zytogenetische und molekulargenetische Analysen genauer charakterisiert wurde. Zusätzlich wurden die Zelllinien in Nacktmäuse transplantiert. Die zytogenetischen Analysen ergaben einen beinahe tetraploiden Karyotyp des Tumors, mit strukturellen und numerischen Aberrationen unter anderem auch des Chromosoms 6.

Chromosom 7:

Weber et Pietsch et al. [92] untersuchten 34 Hepatoblastome und drei Hepatoblastomzelllinien auf Veränderungen ihrer DNA, mittels der vergleichenden Genomhybridisierung. Chromosom 7q hatte einen Materialzuwachs in 6% der Fälle. In einer Zelllinie wurde stark amplifizierte DNA auf dem kurzen Arm des Chromosoms 7 gefunden.

Steenmann et al. [83] untersuchten 16 Hepatoblastome und fanden die häufigsten Abnormalitäten unter anderem auch auf Chromosom 7. Sie verglichen ihre Resultate mit Studien über Tumoren, die mit dem Beckwith-Wiedemann-Syndrom assoziiert sind, dem Wilms-Tumor und dem Rhabdomyosarkom, und kamen zu dem Ergebnis, dass der lange Arm des Chromosom 7 (7q) eines der häufigsten Chromosomen war, das bei der Pathogenese dieser drei Tumoren eine Rolle spielt.

Nagata et al. [60] untersuchten in ihrem Fallreport, wie bereits erwähnt, zwei Kinder mit fetalen Hepatoblastomen.

Neben anderen Chromosomen war auch das Chromosom 7p22 betroffen, und es zeigte sich folgender klonaler Karyotyp: der(7)t(2;7)(q23;p22). Die Forscher vermuteten auch bei diesem Chromosomenort einen Zusammenhang mit der Pathogenese des Hepatoblastoms.

Chromosom 8:

Weber et Pietsch et al. [92] untersuchten Genomveränderungen in 34 Hepatoblastomen und vermuteten bei Zuwachs an genetischem Material auf dem langen Arm des Chromosoms 8 (8q) einen Voraussagewert für die ungünstige Prognose des Tumors gefunden zu haben. Bei 34 Tumoren fanden sie auf dem langen Arm des Chromosoms 8 (8q) in 15% der Fälle und auf dem kurzen Arm des Chromosoms 8 (8p) in 9% der Fälle einen Zugewinn an genetischem Material. Sie unterteilten die Tumorpatienten in eine Gruppe mit gutem Ausgang, die keine Progredienz der Krankheit aufwies, und in eine Gruppe mit schlechtem Ausgang, bei denen die Krankheit mit dem Tod endete. Diese letztere Gruppe wies hauptsächlich einen Gewinn an genetischem Material auf Chromosom 8q und 20 auf. Dieses Ergebnis veranlasste diese Forschergruppe dazu, über eine Rolle dieser Chromosomen als prognostische Faktoren zu spekulieren.

Die bereits erwähnte Studie von **Steenman et al. [83]** erwähnt auch den langen Arm des Chromosoms 8 (8q).

Parada et al. [64] kamen zu dem Schluss, dass außer der Trisomie 2 auch die Trisomie 8 bei der Pathogenese des Hepatoblastoms eine entscheidende Rolle spielt.

Chromosom 9:

Gray et al. [30] fanden in ihrer bereits erwähnten Untersuchung neben anderen Chromosomen als zweit häufigst verändertes Chromosom mit 22% die Chromosomenregion 9p22-pter.

Pietsch et al. [67], auf deren Projekt bereits eingegangen wurde, fanden auch am Chromosom 9 strukturelle und numerische Aberrationen bei einem beinahe tetraploiden Karyotyp.

Chromosom 10:

Weber et Pietsch et al. [92] fanden in 4 von 34 Tumoren hohe amplifizierte Sequenzen in einem Fall auf der Chromosomenregion 10q24-q26.

Chromosom 11:

Hartmann et al. [35] untersuchten Hepatoblastome, die häufig einen LOH der Chromosomenregion 11p15.5 aufwiesen. Dieser Verlust ist mütterlichen Ursprungs und lässt das Vorhandensein eines monoallel exprimierten Tumorsuppressorgens vermuten. P 57 ist auf dieser Chromosomenregion lokalisiert, wird hauptsächlich von dem mütterlichen Allel exprimiert und kodiert einen cyclin-abhängigen Kinaseinhibitor.

Pietsch et al. [67] fanden in ihren bereits erwähnten Tumoranalysen strukturelle und numerische Aberrationen, unter anderem auch des langen Armes des Chromosom 11 (11q). Eine PCR-Analyse des Chromosom 11p zeigte einen LOH aller informationsliefernden Loci, unter anderem auch des WT-1-Gens und des IGF2-Gens.

Simms et al. [81] bringen auch die Chromosomenregion 11p15.5 und deren LOH mit dem Hepatoblastom in Zusammenhang. Sie vermuten, dass diese Region ein bisher unidentifiziertes Tumorsuppressorgen beinhaltet, das mit dem Hepatoblastom und dem BWS-Syndrom zu tun hat. Sie verwendeten den

Insulin-Locus als Marker und fanden in zwei von drei Tumoren ein genetisches Mosaik in der Leber. Ein Tumor, der aus einem Klon entstanden war, zeigte einen LOH in der Leber, der andere entstand aus dem Klon ohne LOH.

Steenman et al. [84] kamen in ihrer bereits erwähnten Untersuchung zu dem Ergebnis, dass sporadisch auftretende Tumoren im Kindesalter, die mit dem BWS-Syndrom assoziiert sind, alle Abnormalitäten derselben Chromosomenregion aufweisen: einer Region auf dem Chromosom 11.

Weber et Pietsch et al. [92] fanden ebenfalls neben vielen anderen Chromosomen einen LOH des kurzen Armes von Chromosom 11 (11p).

Hu et al. [37] wurden bereits mehrmals erwähnt und fanden in zwei von den 10 untersuchten Tumoren einen Verlust von genetischem Material auf Chromosom 11, ohne den Ort näher zu bezeichnen.

Kraus et al. [45] kamen schon in vorausgehenden Studien zu dem Schluss, dass es in 33% der Hepatoblastome zu einem LOH des kurzen Armes des Chromosoms 11 (11p) kommt.

Chromosom 12:

Weber et Pietsch et al. [92] stellten einen Verlust genetischen Materials in 9% der Fälle auf dem langen Arm des Chromosom 12 und in 6% der Fälle auf dem kurzen Arm des Chromosom 12 fest.

Chromosom 13:

Gray et al. [30] untersuchten 18 Hepatoblastome aus Europa und Japan. Die häufigsten Verluste des genetischen Materials traten mit 28% auf der Chromosomenregion 13q21-q22 auf. Ein signifikanter Unterschied der Ergebnisse der vergleichenden Genomhybridisierung bei den Patienten kaukasischer und japanischer Herkunft war , dass allein bei den Proben der Japaner ein Verlust an genetischem Material auf dem langen Arm des Chromosoms 13 (13q) entdeckt wurde. Sie kommen daher zu der Schlussfolgerung, dass es verschiedene Regionen für Suppressorgene und Onkogene bei unterschiedlicher ethnischer Herkunft gibt, die für die Pathogenese des Hepatoblastoms verantwortlich sind.

In der bereits mehrfach erwähnten Untersuchung von **Pietsch et al. [67]** wurden auch bei dem beinahe tetraploiden Karyotyp strukturelle und numerische Aberrationen des Chromosoms 13q gefunden.

Chromosom 15:

In derselben Studie zeigen sich auch chromosomale Veränderungen des kurzen Armes des Chromosoms 15 (15p).

Chromosom 17:

Weber et Pietsch et al. [92] erwähnen auch das Chromosom 17, mit 6% hat es den geringsten Zuwachs an genetischem Material.

Hu et al. [37] fanden bei 10 untersuchten Tumoren vier mit einem Zuwachs von genetischem Material auf Chromosom 17.

Auch **Steenman et al. [83]** kamen bei ihrer bereits erwähnten Studie zu dem Ergebnis, dass das Chromosom 17 einen Gewinn an genetischem Material aufweist. Sie kommen sogar zu dem Schluss, dass der lange Arm des Chromosom 17 (17q) neben Chromosom 7q und 8q zu den häufigsten Chromosomen gehört, die bei BWS-assoziierten Tumoren, Wilms-Tumoren und Rhabdomyosarkomen Veränderungen aufweisen.

Chromosom 18:

Bove et al. [8] kamen zu dem Schluss, dass die Trisomie 18 prädispositionierend für das Hepatoblastom und den Wilms Tumor zu sein scheint, möglicherweise durch einen gemeinsamen Pathomechanismus.

Chromosom 20:

Chromosom 20 erscheint in den bereits erwähnten Studien von **Gray et al. [30]** (20q mit 28%), **Weber et al. [92]** (20 mit 24% und die Vermutung, dass das Chromosom 20 wie das Chromosom 8q als Marker für die Prognose dienen könnte), **Parada et al. [64]** (Trisomie des Chromosoms 20) und der mehrfach erwähnten Untersuchung von **Pietsch et al. [67]** (tetraploider Karyotyp mit numerischen und strukturellen Veränderungen, unter anderem auch des

Chromosoms 20). **Hu et al. [37]** stellten bei ihren Untersuchungen an Hepatoblastomen fest, dass die häufigsten Abnormalitäten die Trisomie der Chromosomen 2 und 20 waren. Von 10 Tumoren kam es bei dreien zu einem Zugewinn an genetischem Material auf Chromosom 20.

Chromosom 21:

In dem bereits beschriebenen Hepatoblastom von **Nagata et al. [60]** war unter anderem der Chromosomenort 21p12 betroffen, und es lag eine partielle Monosomie des kurzen Armes des Chromosoms 21 (21p) vor. Die Wissenschaftler vermuteten also, dass der chromosomale Locus 21p12-13 an der Pathogenese des Hepatoblastoms beteiligt ist.

Chromosom 22:

Weber et al. [92] fanden einen Zuwachs an genetischem Material mit 18% der untersuchten Proben auf Chromosom 22q.

Zusammengefasst kann festgestellt werden, dass beim Hepatoblastom nur wenige Chromosomen keine Defekte aufweisen. Im Wesentlichen werden Zugewinn oder Verlust chromosomalen Materials, LOH und Trisomien festgestellt.

5.1.1.2 Gene

Beta-catenin-Gen:

Das Beta-catenin-Gen, auf Chromosom 3p21, scheint bei der Entstehung des Hepatoblastoms eine wichtige Rolle zu spielen. Dieses Gen ist ein Schlüsselement im Cadherin-vermittelten-Zelladhensionssystem und dem sogenannten Wnt/wingless-pathway und wird von dem APC-Gen (auf Chromosom 5q21-q22), auf das später noch eingegangen wird, kontrolliert.

Park et al. [66] untersuchten in ihrer Studie mit immunohistochemischen Analysen das Beta-catenin-Gen in 30 Hepatoblastomen. Sie versuchten einen Bezug zwischen Veränderungen des Wnt-pathways und den pathologischen

und klinischen Parametern sowie der Überlebensrate herzustellen. Sie fanden vier missense-Mutationen des Beta-catenin-Gens (13,3%) und eine hohe Immunoreaktivität des Beta-catenins im Zytoplasma und/oder dem Nukleolus in 97% der untersuchten Hepatoblastome. Es gelang eine Färbung des Nucleolus und des Zytoplasmas bei 19 von 30 Tumoren (63%), wobei bei 10 nur eine zytoplasmatische Färbung gelang. Sie entdeckten außerdem eine signifikant höhere Färbung des Beta-catenins im Nucleolus bei den embryonalen oder undifferenzierten Tumoren als bei den fetalen Tumoren. Es gab jedoch keinen Unterschied zwischen den klinischen Tumorgraden I-IV. Sie kamen deshalb zu dem Schluss, dass die immunohistochemische Analyse des Beta-catenins ein nützliches Werkzeug zur Formulierung der Prognose sein könnte.

Weber et al. [92] fanden in ihrer bereits mehrfach erwähnten Untersuchung bei 5 von 10 Hepatoblastombiopsien ohne chromosomale Umverteilungen Beta-catenin-Genmutationen, was sie jedoch in keinen Zusammenhang mit der Prognose setzten.

Jeng et al. [40] stellten die Theorie auf, dass somatische Mutationen des Beta-catenin-Gens eine große Rolle bei der Tumorgenese des sporadisch auftretenden Hepatoblastoms haben. *APC* kontrolliert das Beta-catenin.

Es sorgt dafür, dass das Beta-catenin durch die Phosphorylierung an seinem NH(2)-Ende auf den Serin/Threonin-Resten auf Exon 3 herabgesetzt wird. Mutationen dieser Phosphorylierungsstellen sind die ersten Ziele für die Aktivierung von Mutationen in verschiedenen menschlichen Tumoren, und diese führen wiederum zu einer Anhäufung des Beta-catenin-Proteins im Zellkern. In dieser Studie untersuchten sie 9 Patienten mit Hepatoblastomen mittels Immunhistochemie und direkter DNA-Sequenzierung. Alle 9 Hepatoblastome zeigten eine überwiegend nukleäre Expression des Beta-catenins. Acht Tumoren (89%) zeigten Mutationen, die das Exon 3 des Beta-catenin-Gens betrafen (5 Deletionen und 3 missense-Mutationen).

Wei et al. [93] untersuchten die Aktivierung des Beta-catenins in epithelialen und mesenchymalen Hepatoblastomen. Der Wnt/beta-catenin pathway ist durch Mutationen des Beta-catenins und durch den Funktionsverlust des APC-Tumorsuppressorgens regelmäßig in Tumorzellen aktiviert. Sequenzanalysen

des NH₂-Endes des Beta-catenins in 18 epithelialen und gemischten Hepatoblastomen ergaben missense-Mutationen im GSK3beta-Phosphorylierungsmotiv oder Deletionen in 12 Tumoren (67%). Immunhistochemische Untersuchungen des Beta-catenins in 11 Tumoren zeigten nukleäre/zytoplasmatische Anhäufungen des Proteins in allen analysierten Tumoren. Beta-catenin in der Membran wurde nur im fetalen Hepatoblastom entdeckt und war mit E-cadherin-Expression assoziiert. Weiterhin zeigten sie, dass Beta-catenin in einem großen Spektrum von Tumorkomponenten, z.B. hepatozytenähnliche Zellen in verschiedenen Graden, eine Überexpression des Beta-catenins aufweisen. Sie kommen deshalb zu dem Schluss, dass das Beta-catenin eine große Rolle bei der Pathogenese des Hepatoblastoms spielt.

Koch et al. [43] stellten die Theorie auf, dass das kindliche Hepatoblastom häufig eine mutiertes Beta-catenin-Gen (Chromosom 3p21) aufweist. Sie untersuchten 52 Biopsien und drei Zelllinien von sporadisch auftretenden Hepatoblastomen auf Mutationen des APC-Gens und des Beta-catenin-Gens. Das Beta-catenin-Gen wies eine Häufigkeit von 48% an Mutationen auf. Die Mutationen betrafen das Exon 3, das die „Zielbox“, die das Beta-catenin herabsetzt, kodiert. Dies führt wiederum zu einer Anhäufung des intrazytoplasmatischen und des nukleären Beta-catenin-Proteins.

APC-Gen:

Jeng et al. [40] stellten bei sporadisch auftretenden Hepatoblastomen und bei einzelnen Patienten, die an einer Familiären adenomatösen Polyposis (FAP) litten, Mutationen des APC-Gens fest. Die Rolle des APC-Gens ist die Kontrolle des Beta-catenins.

Giardiello et al. [28] wollten das Spektrum der APC-Genmutationen bei Familien mit FAP und Hepatoblastomen analysieren. Sie verglichen 8 Patienten mit Hepatoblastomen und 7 davon mit FAP mit 97 Familien, bei denen APC-Mutationen festgestellt worden waren. Es kamen bei allen 7 APC-Genmutationen heraus. Es war eine erhöhte Belastung der Männer festzustellen. Die Schlussfolgerung war, dass Hepatoblastome überwiegend bei

Jungen mit FAP auftreten und diese mit Keimzellmutationen des APC-Gens am 5`Ende des Gens einhergehen.

Oda et al. [62] untersuchten somatische Mutationen des APC-Gens in sporadisch auftretenden Hepatoblastomen. Zum Zeitpunkt der Untersuchung war den Wissenschaftlern nur eine Keimzellmutation des APC-Gens bei einem Hepatoblastom bekannt. Um die Rolle des APC-Gens bei der Pathogenese des Hepatoblastoms näher zu beleuchten, untersuchten sie den APC- und den MCC-Genlocus auf einen LOH bei 13 Hepatoblastompatienten mit nicht familiärer adenomatöser Polyposis. Ein LOH des APC- und/oder des MCC-Locus wurde in 4 von 7 Fällen (57%) gefunden. Von den 13 Fällen wurden in 8 somatische Mutationen (61,5%) gefunden, und 9 Fälle zeigten genetische Veränderungen des APC-Gens (LOH oder somatische Mutationen). Zwei Fälle waren Doppelmutationen. Neun von 10 Mutationen waren ungewöhnlicherweise missense-Mutationen mit nur einem Fall, der mit einer frame-shift-Mutation einherging, die von einer Insertion herrührte. Zuvor war dies noch nie aufgetreten. Diese Ergebnisse lassen nun darauf schließen, dass eine Mutation des APC-Gens eine große Rolle bei der Pathogenese des sporadisch auftretenden Hepatoblastoms hat.

IGF-2 und H19:

Von Horn et al. [90] untersuchten die Expressionslevel des insulin-like-growth-factor-binding-Proteins und die Isoformen des Insulinrezeptors bei Hepatoblastomen. Sie kamen zu dem Schluss, dass die IGF-Achse bei diesem Tumor „ernsthaft“ zerstört ist.

Ross et al. [72] untersuchten ebenfalls die Expression von H19 und IGF-2 in Hepatoblastomen.

Gewebe von 30 Kindern mit Hepatoblastomen wurde auf allel-spezifische Expression von H19 und IGF-2 untersucht. In allen Tumoren zeigte sich eine monoallele Expression von H19, wohingegen verschiedene Muster von allelspezifischer Expression des IGF-2 bei Kindern unterschiedlichen Alters auftrat.

Yun et al. [97] untersuchten das promotoren-spezifische IGF-2-Gen Imprinting auf Chromosom 11p15.5 in der fetalen Leber des Menschen und bei Hepatoblastomen. Es zeigte sich, dass das Imprinting des IGF-2-Gens promotorspezifisch und die Expression des P1-Promotors biallel ist, wohingegen die des P2-P4 Promotors monoallel ist. In dieser Studie wurde die IGF-2-Genexpression mittels RT-PCR analysiert, die von den Promotoren P1 und P3 transkribiert wurde. Die Ergebnisse waren, dass die Transkripte, die von den Promotoren P1 und P3 exprimiert wurden, sowohl in der fetalen als auch in den neoplastischen Leberzellen zu finden waren.

Pietsch et al. [67] fanden in ihrer bereits mehrfach erwähnten Hept1-Zelllinie bei einer PCR-Analyse des kurzen Arms des Chromosom 11 (11p) einen LOH aller informationstragenden Loci des WT-1- und des IGF-2-Gens.

Akmal et al. [1] untersuchten die Expression des IGF-2 und des IGFBP-2 (insulin-like-growth-factor-binding-protein) bei 11 Hepatoblastomen mit in situ m-RNA Hybridisierung. Die Ergebnisse zeigten, dass sowohl IGF-2 als auch IGFBP-2 Transkripte in den Hepatoblastomen vorhanden waren und dass ihre Expression umgekehrt mit dem Grad der Tumorzelldifferenzierung korreliert war. Sie vermuteten, dass diese Daten der IGF-2- und der IGFBP-2-Expression als Marker für den Grad der Differenzierung des Hepatoblastoms nützlich sein könnte.

Li et al. [47] analysierten die Nützlichkeit der Promotoren und den Imprinting Status des menschlichen IGF-2 in drei genetisch informativen Hepatoblastomen von Kindern zwischen 9 Monaten und drei Jahren. In allen drei Fällen war eine Herabregulierung des Promotors P1 im Tumormaterial vorhanden, während die P2 und P3 Promotoren im Vergleich zu normalem Lebergewebe heraufreguliert waren. Einer der drei Patienten zeigte LOI des IGF-2 im Tumorgewebe. Sie untersuchten außerdem die Expression des H19-Gens in allen drei Fällen und das Methylierungsmuster bei H19 des Patienten mit LOI des IGF-2. Die Expression des H19 war hochgradig reduziert in allen Tumoren. Es gab keinen Unterschied im Methylierungsmuster der normalen Leber und des Tumorgewebes.

Fukuzawa et al. [26] zeigten in ihren Untersuchungen, dass die Expression des H19 Gens bei Verlust des mütterlichen Allels oder bei Hypermethylierung bei 7 von 8 sporadisch auftretenden Hepatoblastomen inaktiviert ist. Außerdem untersuchten sie die Expression des IGF-2-Gens und fanden einen LOI, der verbunden war mit der Inaktivierung des H19-Gens in zwei Hepatoblastomen. Es zeigten also zwei sporadisch auftretende Fälle monoallele Expression des IGF-2-Gens mit Inaktivierung des H19-Gens. Sie vermuteten, dass H19 eine Rolle als Tumorsuppressorgen bei sporadisch auftretenden Hepatoblastomen hat, jedoch manchmal unabhängig von der IGF-2-Expression arbeitet.

Ranier et al. [70] fanden 5 Hepatoblastome mit einem transkribierten Polymorphismus des IGF-2-Gens. Einer zeigte einen LOI des IGF-2 und des H19. Der LOI in den Hepatoblastomen war nicht verbunden mit der Herunterregulierung des H19, und auch diese Wissenschaftler kamen zu dem Ergebnis, dass die IGF-2- und H19-Expression in Tumoren mit LOI nicht gekoppelt sein muss.

MDR1-Gen und GST mu-Gen:

Bader et al. [4] wollten die Medikamentenresistenz bei Hepatoblastomen untersuchen und verwendeten dazu ein Modell, das den Bedingungen in vivo sehr nahe war. Sie kultivierten Hepatoblastommaterial von drei Patienten und xenotransplantierten dies in Mäuse. Anschließend wurden diese Tumoren entweder mit Adriamycin oder Cisplatin behandelt. Die Ergebnisse waren a) eine signifikant erhöhte MDR1-Genexpression nach der Behandlung mit Adriamycin in allen Fällen, b) eine signifikant erhöhte Glutathion S-Transferase mu(GST mu)-Genexpression nach der Behandlung mit Cisplatin in 2/3 der Xenografttransplantate und c) ein signifikant kleiner werdender Topoisomerase IIa Spiegel in den Tumoren derselben zwei Patienten nach der Behandlung mit entweder Adriamycin oder Cisplatin. Diese Ergebnisse führten sie zu der Schlussfolgerung, dass die oben erwähnten Gene an der Medikamentenresistenz bei Hepatoblastomen verantwortlich sein könnten.

Cyclin Ds-Gen:

Iolascon et al. [39] untersuchten den CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C und den cyclin Ds-Genstatus und deren Expression in 14 Hepatoblastomen. Sie wählten diese Gene aus, weil: 1) CDKN2A und CDKN2B sehr häufig in menschlichen Karzinomen inaktiviert sind, 2) cyclin-Ds überexprimiert in mehreren Tumoren wird und 3) CDKN2A nach der Transkription bei hepatozellulären Karzinomen stillgelegt ist. Die strukturelle Analyse dieser Gene in Hepatoblastomen zeigte, dass Deletionen und/oder Punktmutationen fehlten. CDKN2A-Gene sind auf den Chromosomenregionen 9p21 und 1p32 lokalisiert und Untersuchungen dieser Regionen auf einen LOH schließen einen möglichen Verlust eines Allels aus. m-RNA-Analysen zeigten, dass in allen Hepatoblastomen eine Expression von CDKN2C vorhanden war, während CDKN2A- und CDKN2B-Gene nicht im Tumor, ebenso wie in der normalen Leber transkribiert werden. Interessanterweise fanden sie jedoch eine andere m-RNA, die von dem CDKN2A-Gen exprimiert wird und in 100% der Proben nachweisbar war. Die Analyse der cyclin-Ds-Genexpression ergab, dass cyclin D1 in normalem Lebergewebe stark transkribiert wird, wohingegen cyclin D2- oder cyclin D3-Gene stark in den Tumorproben exprimiert wurden. Die Autoren kamen nun zu folgenden Schlussfolgerungen: 1) CDKN2A-, CDKN2B- und CDKN2C-Gene sind von der Struktur her in menschlichen Hepatoblastomen unverändert, 2) CDKN2A (alpha-Transkript) und CDKN2B sind in normalem Lebergewebe stillgelegt, während CDKN2A (beta-Transkript) und CDKN2C deutlich exprimiert werden. Cyclin-D-Gene könnten eine Rolle bei der Pathogenese des Hepatoblastoms spielen.

p57-Gen:

Hartmann et al [35] analysierten den p57 (KIP2)-Genlocus auf Chromosom 11p15.5. Dieses Gen wird überwiegend vom mütterlichen Allel exprimiert und kodiert einen cyclin-abhängigen Kinaseinhibitor. Sie untersuchten 56 Hepatoblastome und 5 Hepatoblastomzelllinien auf LOH des KIP2-Locus und die KIP2 Kodierungssequenzmutationen. Obwohl LOH auf dem KIP2-Locus in 25% der Fälle gefunden wurde, wurden keine Mutationen entdeckt. Analysen

von KIP2 mRNA-Expression mittels PCR ergab eine Hochregulierung in 9 von 12 Hepatoblastomen im Vergleich zu passenden Leberproben.

Im Gegensatz dazu wurden die mRNA-Spiegel des möglichen Suppressorgens H19 auf 11p15.5 bei 10 von 12 Tumoren kleiner. Alle Hepatoblastome zeigten monoallele KIP2-Expression. Die Überexpression des KIP2 in Hepatoblastomen spricht resümierend gegen eine Rolle als Tumorsuppressorgen.

p53-Gen:

Zerbini et al. [98] untersuchten 30 primär maligne epitheliale Tumoren der Leber, darunter 24 Hepatoblastome und 6 hepatozelluläre Karzinome (HCC). Sie untersuchten die Expression des Onkogens c-erb2 und des Tumorsuppressorgens p53. Sie fanden in 12 von 26 Fällen eine Überexpression von p53 (in 3 von 5 HCC und in 9 von 21 Hepatoblastomen).

Kusafuka et al. [46] analysierten 82 solide Tumoren bei Kindern, darunter auch 11 Hepatoblastome auf Veränderungen des p53-Gens auf Chromosom 17p13.1. Es konnten jedoch bei den Hepatoblastomen keine Mutationen gefunden werden. Sie vermuten jedoch trotzdem eine tragende Rolle bei der Pathogenese unter anderem des Hepatoblastoms.

Oda et al. [63] amplifizierten und sequenzierten die Exons 5 bis 8 des p53-Gens bei 10 Hepatoblastomen. Es wurden in 9 Fällen somatische Mutationen und in 8 eine Punktmutation auf Codon 157 gefunden. Zwei missense-Mutationen auf Codon 244 und eine auf Codon 273 und Codon 279 wurden ebenso entdeckt, und drei Hepatoblastome hatten eine doppelte missense-Mutation. Weiterhin wurde immunhistochemisch eine p53-Überexpression in 7 von 9 Fällen mit p53-Mutationen beobachtet. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass Mutagene in die Veränderung des p53-Gens in manchen Hepatoblastomfällen involviert sein könnten und Mutationen dieses Gens zu deren Pathogenese beitragen könnten.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass beim Hepatoblastom im Wesentlichen Gene von erhöhter und erniedrigter Genexpression, LOI, LOH,

Mutationen (somatische Mutationen, Punktmutationen, Doppelmutationen, missense-Mutationen) und Deletionen.

5.1.1.3 Expressionsproteine

Ninomiya et al. [61] benutzten die PCR-Technik, um HNF-1 und vHNF-1 mRNA gleichzeitig zu amplifizieren und ihre Expressionsrate in der gesamten RNA, die aus gefrorenem Lebergewebe von 37 Patienten mit HCC, fünf Patienten mit Hepatoblastomen und 15 nicht-neoplastische Lebergewebsproben entnommen wurde, zu untersuchen. Die Ergebnisse waren, dass die Rate des HNF-1 im Vergleich zu vHNF-1-m-RNA höher in den gut ausdifferenzierten Fällen höher war als in den kaum differenzierten und undifferenzierten Fällen, außer einem kaum differenzierten Hepatoblastom, das eine hohe Rate aufwies. Dies lässt darauf schließen, dass die Rate der HNF-1- und vHNF-1-m-RNA mit dem Grad der Differenzierung des HCC und des Hepatoblastoms korreliert.

Zogopoulos et al. [100] fanden verschiedene Varianten (V1-V8) der hGHR-mRNA im Lebergewebe von Erwachsenen. Es wurde nun die Expression der Varianten V1 und V3 in mehreren menschlichen fetalen und postnatalen Geweben, Hepatoblastom- und HCC-Proben untersucht. V3 wurde unter anderem in allen fetalen und postnatalen Geweben exprimiert, V1 jedoch wurde nur in postnatalen Proben gefunden. Die Expression von V1 ist nicht messbar in den Hepatoblastoproben. V3 hingegen wird in allen Hepatoblastomen exprimiert. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass eine gewebs-, foetus- und tumorspezifische Regulation von V1 hGHR-m-RNA beim Menschen stattfindet.

5.1.1.4 Chromosomenaberrationen

Ma et al. [49] fanden in ihren Studien eine unbalancierte Translokation in der Form der(4)t(1;4)(q12;q34). Es waren bereits vier weitere Fälle dieser Translokation bei Hepatoblastomen bekannt.

Nagata et al. [60] entdeckten bei einem Patienten unter anderem eine partielle Tetrasomie von 1q, eine partielle Trisomie von 2q und eine partielle Monosomie von 21p.

Der klonale Karyotyp des Tumors war 46,XY,der(2)t(1;2)(q32;q37),der(6)t(q12;q27),der(7)t(2;7)(q23;p22),der(21)t(2;21)(q23;p12). Der andere Patient wies eine Trisomie 2 und eine Trisomie 8 auf, der klonale Karyotyp war 48,XX,+2,+8.

Balogh et al. [6] fanden bei einer Standardchromosomenanalyse folgenden Karyotyp: 47,XY,add(4)(q35),der(9)ins(9;2)(p22;q?21?25),+20 und eine Trisomie des Chromosoms 2.

Balogh et al. [5] nennen folgenden Karyotyp: 47,XY,add(4)(q26),-9,+20.

Teraguchi et al. [87] fanden einen sehr seltenen Fall von Trisomie 18 (47,XX,+18) im Zusammenhang mit einem Hepatoblastom.

Parada et al. [64] beschreiben Trisomien der Chromosomen 2, 8 und 20.

Hu et al. [37], Sainati et al. [73] fanden in den von ihnen analysierten Hepatoblastomen Trisomie 2 und 20.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass nur wenige Chromosomen und Gene beim Hepatoblastom nicht verändert sind.

Es muss in einer Wertung auch berücksichtigt werden, dass die Untersuchungen mit unterschiedlichen Methoden durchgeführt worden sind und dadurch die Ergebnisse der verschiedenen Autoren nur bedingt verglichen werden können.

Die Ergebnisse sind auch noch nicht wirklich von Nutzen für die Tumortypisierung und Tumorstratifizierung, dazu sind sie noch zu wenig eindeutig gesichert.

Einen interessanten Ansatz liefern **Bader et al. [4]** für die Chemo- und Medikamentenresistenz des Hepatoblastoms. Sie nennen Gene (MDR1- und GST mu-Gen), die für die Resistenz verantwortlich sein könnten. Aber auch dieses Ergebnis ist bis jetzt nicht gesichert oder bestätigt worden.

5.1.2. Wilms Tumor

5.1.2.1 Chromosomen

Auch beim Wilms Tumor scheint die Pathogenese ein multifaktorielles Geschehen zu sein. Es sind drei Gene bekannt, die sicher bei der Entstehung des Wilms Tumors eine Rolle spielen. Diese Gene sind auch schon genau lokalisiert.

Chromosom 1, 3, 7, 14, 16 und X:

Wiener et al. [96] sehen die Chromosomenregionen 1p und 16q als möglichen Prognosefaktor, um die Intensität der Therapie festzulegen.

Fleming [25] entdeckte, dass die Mehrzahl der konventionellen oder Klarzell-Nierentumoren mit Verlusten des Chromosom 3p einhergehen. Außerdem scheint das Chromosom 14q eine Bedeutung zu haben. Die papillären renalen Karzinome sind mit der Veränderung des Chromosom 7, mit einer kleinen Untergruppe der familiären papillären renalen Karzinome, die Veränderungen des X-Chromosoms aufweisen, verbunden. Der Autor sieht in einer genauen Klassifikation des Tumors bessere Möglichkeiten der therapeutischen Intervention.

Chromosom 11:

Wiener et al. [96] beschreiben das Chromosom 11p13, auf das das Tumorsuppressorgen WT-1 beinhaltet und das bei der Entwicklung des Wilms Tumors neben anderen Chromosomen eine große Rolle spielt.

Auch **Fleming [25]** nennt die Lokalisation des WT-1-Gens auf Chromosom 11p13.

Erzsebet et al. [23] beschreibt den Fall eines Kindes mit Wilms Tumor, das eine Deletion des Chromosoms 11p13 (del(11)(p13)) aufwies.

Feinberg [24] beschreibt multiple genetische Abnormalitäten des Chromosoms 11p15 beim Wilms Tumor. Diese Chromosomenregion beinhaltet ein Tumorsuppressorgen.

Chromosom 16:

Tamaro [85] glaubt auch an die prognostische Aussagekraft der Chromosomen 16q (LOH) und 1p.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass beim Wilms Tumor die häufigsten chromosomalen Veränderungen Deletionen und Verlust an genetischem Material sind.

5.1.2.2 Gene

WT-1-Gen:

Die Entwicklung des Wilms Tumors bezieht verschiedene Gene mit ein. Eines davon ist das WT-1-Tumorsuppressorgen, von dem auch **Wiener et al. [96]** berichtet. Dieses Gen ist auf Chromosom 11p13. Auch **Fleming [25]** nennt das WT-1-Gen und dessen Lokalisation. Es kodiert ein **Zinkfingerbindungsprotein**, das wichtig für die Regulation der Bildung des frühen Nephrons ist.

Tay [86] spekuliert darüber, dass der Verlust oder die Inaktivierung dieses WT-1-Tumorsuppressorgens der entscheidende erste Schritt zur Entstehung des Wilms Tumors sei.

WT-2- und WT-3-Gen:

Fleming [25] konnte zum Zeitpunkt seiner Arbeit noch keine genaue Lokalisation des WT-2-Gens nennen, spricht ihm jedoch eine Rolle bei der Entstehung des Beckwith-Wiedemann-Syndroms und damit des Wilms Tumors zu.

Auch **Tay [86]** erwähnt das WT-2-Gen und nennt dessen Lokalisation auf Chromosom 11p15 in der Region des Beckwith-Wiedemann-Locus. Der WT-3-Locus befindet sich auf Chromosom 16q und dieser ist seiner Meinung nach ebenfalls an der Pathogenese des Wilms Tumors beteiligt.

VHL-Gen:

Fleming [25] nennt in seiner Arbeit ebenfalls das VHL-Gen (von Hippel Lindau), das auf Chromosom 3p liegt. Mutationen oder Verluste dieses Gens sind mit der Mehrzahl der konventionellen oder Klarzell-Nierentumoren assoziiert. Das papilläre renale Karzinom ist mit verschiedenen genetischen Veränderungen verbunden, im besonderen aber Mutationen des c-met Proto-Onkogens.

5.1.2.3 Allele

Tsuchida et al. [88] erwähnen, dass es beim Bechwith-Wiedemann-Syndrom, das häufig mit dem Wilms Tumor assoziiert ist, zu einer Verdoppelung des väterlichen Allels auf Chromosom 11p15 (WT-2-Gen) kommt.

5.1.3 Retinoblastom

5.1.3.1 Chromosomen

Weigel et al. [94] beschreiben den Fall eines Jungen mit beidseitigem Retinoblastom, Morbus Hirschsprung und multiplen kleineren Anomalien. Das Kind wies eine Deletion des Chromosoms 13q (q13→q22) auf. Sie vermuten in dieser Kombination der Krankheiten ein bisweilen unbekanntes Syndrom.

Mitchell [56] nennen die Lokalisation des RB-1-Gens auf Chromosom 13q14.

Cohen [19] beschreiben die Pathogenese des Retinoblastoms durch den Verlust oder die Deletion genetischer Informationen auf dem langen Arm des Chromosoms 13 (13q).

Auch **Weinberg [95]** lokalisiert das Retinoblastom-Gen auf Chromosom 13q14.

Munier et al. [59] karyotypisierten 13 Retinoblastome von Patienten. Es zeigte sich ein Mosaik von del(13)(q14.1;q14.3) bei einer kleinen Patientin, die beidseitig sporadisch auftretende Retinoblastome hatte.

Die häufigsten genetischen Veränderungen der Chromosomen beim Retinoblastom sind Verlust oder Deletion genetischer Veränderungen.

5.1.3.2 Gene

Kostyk et Pietrzyk [44] beschreiben die Entwicklung des Retinoblastoms durch die Mutation beider Allele des RB-1-Gens.

Minoda [55] untersuchen das RB-1-Gen, um Voraussagen zur Krankheit zu treffen. Mittels PCR analysierten sie Leukozyten-DNA, Exon für Exon bei Patienten mit bilateralen Retinoblastomen.

In 22 von 33 Fällen wurden Keimzellmutationen gefunden. Bei zwei Familien mit diesen hereditären Retinoblastomen gelang es mit dieser Methode tatsächlich, eine präsymptomatische Vorhersage bei zwei Neugeborenen zu treffen.

Lueder et Smith [48] sagen, dass Mutationen des RB-1-Gens mit der Regulation des Zellzyklus in Interaktion treten. Patienten, die eine Keimzellmutation dieses Gens aufweisen, haben das Risiko, einen zweiten, nicht okulären Tumor zu entwickeln.

Der bereits erwähnte **Weinberg [95]** zeigt, dass beide Kopien des RB-1-Gens beim Retinoblastom eine Mutation aufweisen oder verlorengegangen sind.

Gallie et al. [27] nennt auch die Mutation des RB-1-Gens als Auslöser des Retinoblastoms. Außerdem ist das Onkogen N-myc in manchen Retinoblastomen amplifiziert und wird in normaler fetaler Retina exprimiert.

5.1.3.3 Allele

Im Falle des Retinoblastoms sind beide Allele des RB-1-Gens betroffen, worauf **Kostyk et Pietrzyk [44]** hinweisen.

5.1.3.4 Expressionsproteine

Laut **Gallie et al. [27]** erreichen viele Retinoblastome eine sehr hohe Expression des Zellmembranoberflächenglykoproteins p170. Dieses Glykoprotein ist mit einer Medikamentenmultiresistenz verbunden, die auch dann besteht, wenn der Tumor noch gar keiner Chemotherapie ausgesetzt war. **Weinberg [95]** vermutet, dass das Retinoblastomprotein p110RB1 eine Schlüsselrolle bei der Signalübertragung spielt, die den Zellzyklus kontrolliert.

5.1.4 Neuroblastom

Mora et al. [57] beobachteten eine häufige Deletion des kurzen Armes des Chromosom 1(1p) bei Neuroblastomen.

Sie untersuchten 120 gut charakterisierte Neuroblastome auf LOH, um die Regionen, auf denen der Verlust genetischen Materials stattfindet, genauer zu beschreiben und um dessen Bezug zum klinischen Erscheinungsbild und der Prognose herzustellen. Alle Kategorien des Tumors waren nach der Internationalen Neuroblastomtumoreinteilung vertreten: 7 Ganglioneurome, 8 mit Grad 4S, 33 lokal-regionale Tumoren (Grad 1, 2 und 3) und 72 Grad 4 Neuroblastome. Deletionen des Chromosoms 1p wurden in allen Kategorien des Tumors gefunden, außer bei den Ganglioneuromen. Häufiger LOH wurde auf zwei verschiedenen Regionen des Chromosom 1p festgestellt. Der klinisch sehr aggressiv verlaufende Grad 4 des Tumors war hauptsächlich diploid mit einem ausgeprägten LOH der Region 1ptel bis 1p35 in 55% der Fälle und der Region 1p22 in 56% der Fälle. Die kürzeste Region zur Überlappung des LOH auf 1p36 war zwischen D1S548 und D1S1592 festzustellen und bei 1p22 war sie zwischen D1S1618 und D1S2766 anzutreffen.

Lokal-regionale Tumore waren meistens hyperdiploid mit kurzen Regionen des Verlustes an genetischem Material auf Chromosom 1p36 in 42% der Fälle. Die meistens spontan zurückgehenden Grad 4S Tumoren waren hyperdiploid ohne Verluste auf 1p36 oder 1p22. Diese Ergebnisse liess die Wissenschaftler

vermuten, dass diese zwei Regionen des Chromosomenarms 1p eine herausragende Rolle bei der Pathogenese des Neuroblastoms spielen.

Da Silva et al. [20] sehen in der Deletion des Chromosoms 1p, der Amplifikation des N-myc-Gens und dem Fehlen des CD44-Gens die genetischen Faktoren, die mit der Ausbreitung des Neuroblastoms assoziiert sind. Menschliche Neuroblastom-Xenokrafttransplantate in Nacktmäusen haben es ermöglicht, die ausgebreiteten Neuroblasten, die Onkogen-Überexpression, die Inaktivierung der Tumorsuppressorgene und die Aktivierung der entgiftenden Gene, die zu zellulärer Resistenz gegen die Chemotherapie führten, zu charakterisieren. Die Forscher hoffen, dass die Charakterisierung dieser genetischen Abnormalitäten neue therapeutische Möglichkeiten bietet.

Brodeur et al. [13] sahen, dass das Neuroblastom eine große Bandbreite an klinischem Verlauf bietet, von spontaner Regression bis zu früher Metastasierung und damit zu einem frühen Tod.

Sie untersuchten deshalb unterschiedliche genetische Variablen, die möglicherweise das klinische Verhalten vorhersagen oder erklären lassen. Sie untersuchten DNA oder RNA von einer großen Anzahl Kinder, die an klinischen Versuchen einer anderen Forschergruppe teilnahmen. Die Ergebnisse waren, dass sich das Neuroblastom in drei Untergruppen unterteilen lässt: 1) Tumoren mit hyperdiploidem Karyotyp und hoher TRK-A-Expression, häufig sind Kinder betroffen mit niedrigen Tumorgraden und einer guten Prognose, 2) Tumoren mit beinahe diploider DNA, für gewöhnlich mit Verlust des Allels auf 1p oder anderen strukturellen Veränderungen, jedoch fehlt N-myc-Amplifizierung, und die TRK-A-Expression ist niedrig; diese Patienten sind generell älter mit fortgeschrittenen Stadien und mittelmäßiger Prognose, 3) Tumoren mit N-myc-Amplifizierung, 1p Allelverlust und niedriger oder fehlender TRK-A-Expression, die Patienten sind 1-5 Jahre alt und haben fortgeschrittene Stadien der Erkrankung, schnelle Tumorprogression und eine sehr schlechte Prognose. Diese Einteilung ermöglicht es, eine Vorhersage des Ausgangs der Erkrankung zu treffen und somit die Intensität der Behandlung festzulegen und mögliche Nebenwirkungen bei guter Prognose zu minimieren.

Tschuida et al. [89] erwähnen ebenfalls die Deletion des Chromosom 1p. Sie kartieren ein eventuelles Tumorsuppressorgen der N-myc-Amplifikation auf Chromosom 1, nämlich zwischen 1p35-36.1 und 1p36.23. Die Expression des bcl-2 Protoonkogens ist eng mit einer bösartigen Histologie verbunden, wohingegen die Expression von Ha-ras und von TRK-A-Protoonkogen eine gute Prognose voraussagt. Das TRK-A-Protoonkogen kodiert einen Rezeptor für einen Nervenwachstumsfaktor.

Sawada et al. [74] nennen unter anderem die Veränderungen des Chromosoms 1p als prognostischen Faktor, neben der N-myc-Amplifikation und der TRK-A-Überexpression.

Auch **Harms [34]** nennt die genetischen Faktoren, die zu einer schlechten Prognose beitragen: strukturelle Veränderungen des Chromosom 1, „double minute“-Chromosomen, N-myc-Amplifikation und diploide DNA.

Brodeur [11] unterteilt das Neuroblastom ebenfalls in drei Subtypen: 1) hyperdiploider oder triploider Karyotyp, LOH von 1p und N-myc-Amplifikation fehlen, und die TRK-A-Expression ist hoch.

Diese Patienten sind Kleinkinder mit niedrigen Graden der Erkrankung (Grad 1, 2 oder 4S nach dem INSS), die Prognose ist sehr günstig, 2) Tumoren, die meistens einen beinahe diploiden oder tetraploiden Chromosomensatz aufweisen, es fehlt jedoch die N-myc-Amplifikation. Sie haben für gewöhnlich einen Allelverlust des Chromosom 1p, Allelverlust von 14q oder andere strukturelle Veränderungen, die TRK-A-Expression ist für gewöhnlich niedrig. Diese Patienten sind generell älter mit fortgeschrittenen Stadien der Erkrankung (Grad 3 oder 4), und sie haben einen langsam fortschreitenden Verlauf mit einer Heilungschance von 25-50 %. 3) Tumoren mit N-myc-Amplifikation, diploidem oder tetraploidem Karyotyp, Allelverlust von 1p und niedriger oder fehlender TRK-A-Expression. Diese Patienten sind meistens zwischen einem und fünf Jahren alt, sie sind schon in fortgeschrittenen Stadien der Erkrankung und haben sehr schlechten Prognose (Heilungsrate <5%).

Fraglich ist, ob Tumoren der einen Gruppe in eine weniger günstige Gruppe übergehen können, aber die vorhandenen Ergebnisse lassen vermuten, dass

die Gruppen genetisch festgelegt sind. Und auch dieser Autor sieht in diesen Erkenntnissen eine Möglichkeit die Therapie des Neuroblastoms zu optimieren.

Girgert et al. [29] sehen in der N-myc-Amplifikation, der Deletion des Chromosoms 1p36, der „Ploidität“ und der TRK-A-Expression Marker für die Wahl des Therapieschemas. Neuroblastome ohne N-myc-Amplifikation und hoher TRK-A-Expression zeigen einen guten Verlauf und erlauben ein schwächere Chemotherapie. Neuroblastome mit N-myc-Amplifikation und Fehlen der TRK-A-Expression haben eine sehr schlechte Prognose und benötigen eine intensivere Behandlung.

Maris et Matthay [51] beschreiben das Neuroblastom als Zusammenspiel verschiedener genetischer Ereignisse: Überexpression von Genen (Onkogene), Geninaktivierung (Tumorsuppressorgene) oder Veränderungen in der Genexpression. Die Amplifikation des N-myc-Proto-Onkogens, die in 20 bis 25 % der Neuroblastome auftritt, sehen die Forscher als verlässlichen Marker für den klinischen Verlauf der Erkrankung. Bei 50% der Primärtumoren zeigte sich ein Zuwachs an genetischem Material auf Chromosom 17q23-qter.

Sie vermuten außerdem Tumorsuppressorgene auf den Chromosomen 1p36 bei 30% bis 35% der Primärtumoren, Chromosom 11q23 bei 44% und Chromosom 14q23-qter bei 22% der Primärtumoren. Veränderungen der Expression des Neurotrophins und dessen Rezeptoren korreliert mit dem klinischen Verlauf und könnte den Grad der neuroblastischen Differenzierung vor der Umwandlung in die Malignität widerspiegeln.

Brodeur [12] nennt die bis zu diesem Zeitpunkt identifizierten Chromosomenorte, auf denen es zu einem Allelverlust kommt, nämlich 1p36 und 14q32. Außerdem erwähnt er erneut die N-myc-Amplifikation als sehr guten prognostischen Marker für aggressiv verlaufende Tumoren. Der NGFR-Weg scheint eine wichtige Rolle bei der Regulation der Differenzierung und des programmierten Zelltodes (Apoptose) dieser Zellen zu spielen, aber andere, dem NGFR-Weg verwandte Wege, oder fremde Gene könnten ebenso beteiligt sein.

Schwab et al. [76] entdeckten außer der Amplifikation des N-myc-Gens und der Veränderung des kurzen Arms von Chromosom 1 (1p) zwei weitere

genetische Abweichungen: 1) die Verdoppelung des N-myc-Gens auf Chromosom 2p24 und 2) die Amplifikation des MDM2-Gens. Diese Veränderungen wurden allerdings noch nicht in Primärtumoren gefunden.

Schwab [77] erwähnt erneut die Amplifikation des Onkogens N-myc bei Patienten mit einer sehr schlechten Prognose und dessen Bedeutung als Marker für ein passendes Therapieschema.

Bordow et al. [9] fanden ebenfalls einen Zusammenhang zwischen der N-myc-Amplifikation und dem Tumorgrad heraus. Mittels Reverse-Transkriptase-PCR untersuchten sie bei 60 unbehandelten Primärtumoren die Genexpression des N-myc. Die Ergebnisse waren, dass hohe Spiegel an N-myc-Expression auch mit einem hohen Tumorgrad einhergingen. Unter den Patienten ohne N-myc-Genamplifikation waren die Spiegel der N-myc-Genexpression bei den Tumoren von Kleinkindern höher als bei älteren Kindern. Hohe N-myc-Expression war eng mit der erniedrigten Lebenserwartung assoziiert. Die Forscher vermuten aber, dass die hohe N-myc-Genexpression nur bei älteren Kindern einen Vorhersagewert in bezug auf den Ausgang der Erkrankung hat und nicht bei Kleinkindern.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass beim Neuroblastom veränderte Genexpressionen, Allelverluste, Amplifikationen und nicht näher bezeichnete strukturelle Veränderungen vorkommen. Die unterschiedliche Ausprägung dieser Veränderungen spielt eine große Rolle für die Prognose und Therapie.

5.1.5 Morbus Hirschsprung

Wakamatsu et al. [91] berichten über die Mutationen des SIP1-Locus, der das Smad interacting protein-1 kodiert und in manchen Fällen den Morbus Hirschsprung verursacht. SIP1 liegt auf Chromosom 2q22 eines Deletionssegmentes bei einem Patienten mit einer de novo Translokation t(2;13)(q22;q22). SIP1 scheint eine Rolle bei der Entwicklung einer normalen Neuralleiste zu spielen.

Mowat et al. [58] untersuchten sechs Kinder mit mentaler Retardierung, Mikrozephalie und einem kurzen Körperbau. Bei vier von diesen Kindern wurde außerdem nach der Geburt ein Morbus Hirschsprung diagnostiziert. Bei einem weiteren Kind wurde im Alter von drei Jahren die Diagnose eines Morbus Hirschsprung gestellt. Einer dieser Patienten hatte eine Deletion des Chromosom 2 (del(2)(q21;q23)). Es wurde nun vermutet, dass ein betroffener Genort bei Morbus Hirschsprung auf Chromosom 2q22-q23 lokalisiert ist. Bereits veröffentlichte Berichte zeigen, dass Kinder mit Hirschsprung und den oben genannten Anomalien eine phänotypisch und genetische Heterogenität aufweisen.

Shimotake et al. [79] untersuchte fünf Patienten mit hohem Risiko für kongenitale Aganglionose auf mögliche Keimzellmutationen des RET-Protoonkogens auf Chromosom 10q11.2. Alle fünf waren Jungen, und einer von ihnen hatte in seiner Familienanamnese Morbus Hirschsprung. DNA wurde aus lymphoblastoiden Zelllinien der Patienten und ihrer Angehöriger, gewonnen. Unter den Verwandten wurden mittels PCR drei Keimzellmutationen der Tyrosinkinase-Rezeptordomäne gefunden. Phänotypische Variationen der kongenitalen Aganglionose könnten von dem RET-Mutationsmuster und anderen genetischen oder äußeren Bedingungen abhängen.

Attie et al. [2] stellen zwar fest, dass die meisten Fälle des Morbus Hirschsprung sporadisch auftreten.

Die etwa 10% der familiär auftretenden Fälle haben dazu beigetragen, dass ein autosomal-dominantes Gen auf Chromosom 10, das RET-Protoonkogen zu identifizieren und zu lokalisieren. Dieses Gen ist verantwortlich für 50% der familiär auftretenden Formen und für 15% der sporadisch auftretenden Fälle.

Ein zweites Gen wurde auf Chromosom 13 lokalisiert, das Endothelin-Beta-Rezeptor-Gen (EDNRB). Zwei homozygote Mutationen wurden in einer blutsverwandten Familie entdeckt, in der der Hirschsprung mit dem Waardenburg Syndrom assoziiert ist. Andere heterozygote Mutationen wurden bei Patienten mit isoliertem Hirschsprung gefunden, und 5% der Fälle zeigen Mutationen in diesem Gen.

Außerdem hat der Autor eine Mutation des Endothelin3-Gens (EDN3), einem der EDNRB-Liganden, bei einem Patienten mit Hirschsprung und Waardenburg Syndrom identifiziert. Diese Mutation sagt ein komplettes Fehlen des EDN3-Proteins voraus und ist deshalb das dritte bekannte Gen, das verantwortlich für den Morbus Hirschsprung zu sein scheint.

Auch **Martucciello et al. [52]** lokalisieren das hauptverantwortliche Gen das RET-Protoonkogen für den Hirschsprung auf Chromosom 10q11.2.

Weigel et al. [94] beschreiben den Fall eines Jungen mit bilateralem Retinoblastom, Morbus Hirschsprung und mehreren kleineren Anomalien und einer interstitiellen Deletion des Chromosoms 13q (q13→q22). Sie vermuten ein bisher unbekanntes Syndrom.

Auricchio et al. [3] benennen Chromosom 10 und 13 im Zusammenhang mit dem Morbus Hirschsprung. Mutationen des RET-Protoonkogens auf Chromosom 10q11.2 und missense-Mutationen des EDNRB-Gens auf Chromosom 13q22 wurden in verschiedenen Fällen gefunden.

Um nun herauszufinden, ob Mutationen im EDNRB-Gen verantwortlich für den Hirschsprung sind, testeten die Autoren DNA-Proben von 17 italienischen Patienten mit Hirschsprung. Sie entdeckten zwei neue EDNRB-Mutationen: eine missense-Mutation in einem sporadisch aufgetretenen Fall und eine einzelne Nukleotid-Deletion in einem familiär auftretenden Fall. Beide Mutationen wurden auch bei beiden gesunden Eltern gefunden, und keine dieser Mutationen wurde jedoch in den anderen gesunden Personen gefunden, die getestet worden waren.

Diese Daten bestätigten für die Forscher eine Beteiligung des EDNRB an der Pathogenese des Hirschsprungs.

Michaelis et al. [54] beschreiben einen Patienten mit Morbus Hirschsprung und Autismus. Die Karyotypisierung ergibt eine interstitielle Deletion des Chromosom 20p11.22-p11.23. Die Deletion betrifft nicht die Alagille-Syndrom-Region. Diese Region wurde bis jetzt weder mit Hirschsprung noch mit Autismus in Verbindung gebracht. Jedoch könnte diese Region Gene enthalten, die mit einer Störung der normalen neuronalen Entwicklung einhergehen.

Inoue et al. [38] berichten von Keimzellmutationen der Gene RET, GDNF und NTN beim Morbus Hirschsprung. In ihrer Arbeit beschreiben die Autoren die Ergebnisse der Mutationsanalysen von 15 japanischen Kindern mit völliger Aganglionose des Kolons. Sie entdeckten 8 verschiedene RET-Mutationen in den Exons 1, 7, 10, 12, 15 und 17 bei 10 von 15 Patienten. Von diesen 8 Mutationen wurden fünf in der Tyrosinkinase-Domäne gefunden. Es wurden außerdem keine Mutationen der GDNF- oder NTN-Gene gefunden. Diese Patientengruppe scheint eine höhere Rate an RET-Mutationen und Mutationen der Tyrosinkinase-Domäne aufzuweisen.

Martucciello et al. [53] haben mittels Genkartierung und Mutationsscreening der in Frage kommenden Gene und zugleich Beobachtungen von gesunden und sogenannten „knockout“-Tiermodellen verschiedene Gene gefunden, die für die Pathogenese des Morbus Hirschsprung verantwortlich sein könnten. Das RET-Protoonkogen ist am häufigsten betroffen, sowohl bei den sporadisch auftretenden als auch bei den familiären Erkrankungen. Diese Mutationen erstrecken sich über die ganze Kodierungssequenz. Verschiedene Studien haben 6 Hirschsprung-Gene identifiziert: 1) RET-Protoonkogen (RET), 2) Endothelin 3 (EDN3), 3) Endothelin B Rezeptor-Gen (EDNRB), 4) glial-cell-line-derived-neurotrophic-factor (GDNF), 5) endothelin-converting-enzyme (ECE1) und 6) Gen, das den Sry verbundenen Transkriptionsfaktor SOX10 kodiert (SOX10). Umweltfaktoren können ebenso eine Rolle bei der Entstehung der Aganglionose spielen. Das Expressionsdefizit verschiedener Faktoren (GDNF, NTN) im embryonalen Enddarm, in Abwesenheit von Mutationen, könnte eine verpasste Aktivierung des Rezeptorsystems zur Folge haben und somit ein Anhalten der Neuroblastenmigration im Darm verursachen.

Griseri et al. [31] untersuchten, ob Sequenzvarianten des RET-Protoonkogens möglicherweise mit der phänotypischen Ausprägung des Morbus Hirschsprungs in Verbindung stehen. Sie analysierten 92 italienische Patienten und deren T-Allel auf Exon 14 und fanden heraus, dass diese Allel tatsächlich weniger vorhanden ist als in der Kontrollgruppe. Andererseits findet man dieses Allel bei Patienten mit medullärem Schilddrüsenkarzinom überrepräsentiert.

Staiano et al. [82] beschreiben, dass zwei verschiedene Transmembranrezeptoren, RET und EDNRB, und deren Liganden, GDNF und Endothelin3, an der Migration und Differenzierung der Ganglienzellen im Darm, der Neuronen des Sympathikus und der Melanozyten, die von der Neuralleiste ausgehen, verantwortlich sind. RET- und GDNF-Ausfälle legen nahe, dass diese an einer korrekten Ausprägung des autonomen Nervensystems beteiligt sind. Das Ziel ihrer Untersuchung war es, das autonome Nervensystem bei Patienten mit Morbus Hirschsprung zu untersuchen. Sie unterzogen 17 Kinder mit einem Durchschnittsalter von 8,6 Jahren mit Hirschsprung und 19 alters- und geschlechtsangepasste Kontrollkinder mit einem Durchschnittsalter von 9,9 Jahren einem Test des kardiovaskulären Systems und der Pupillen auf ihre adrenergen, sympathischen und cholinergen und kardiovagale cholinergen Funktionen. Sieben der Hirschsprung-Kinder waren von einer Dysfunktion des autonomen Nervensystems betroffen. Drei von 7 schienen eine sympathische Denervierung zu haben, 2 zeigten eine parasympathische Dysfunktion, während die verbleibenden zwei sowohl sympathische als auch parasympathische Dysfunktionen aufwiesen. Eine Mutation des RET-Protoonkogens wurde nur bei einem Patienten gefunden. Die Dysfunktion scheint ein multifaktorielles Geschehen zu sein.

Zhan et al. [99] hatten als Ziel ihrer Untersuchungen die GDNF-Proteinexpression und RNA-Expression des RET-Proto-Onkogens bei Morbus Hirschsprung zu bestimmen. Mittels RT-PCR wurden 15 Patienten mit Hirschsprung untersucht. Ein signifikant niedrigeres Signal der RET-mRNA wurde in dem Darm mit der Aganglionose im Vergleich zu normalem Darm gefunden. In verschiedenen Altersgruppen der Patienten gab es gleiche Ergebnisse. Bei denselben Patienten gab es außerdem eine hohe Immunoreaktivität des GDNF im Plexus myentericus.

Die Schlussfolgerung der Autoren war nun, dass die herabgesetzte RET-Expression im aganglionären Darm eine Fehlentwicklung der Zellen, die von der Neuralleiste ausgehen, beim Hirschsprung bedeuten könnte.

Die reduzierten GDNF-Spiegel im aganglionären Darm suggerieren ein GDNF-Expressionsdefizit, das die Signalkette über RET unterbricht.

Sijmons et al. [80] erwähnen, dass Keimzellmutationen des RET-Protoonkogens bei 2,5-5% der sporadisch auftretenden und familiären Hirschsprungfälle gefunden wurden. Das Ziel war es, einen klinischen Nutzen des RET-Gens zur Testung des Hirschsprungs und dem Risiko der Verwandten einen Tumor zu bekommen, herauszuarbeiten. Sie untersuchten 60 Patienten mit Hirschsprung auf RET-Mutationen. Bei dreien wurde eine MEN2a-typische RET-Mutation gefunden. Es wurde nur von 22 familiären oder sporadischen Fällen mit Hirschsprung und RET-Mutationen berichtet. Außerdem ist es schwer, ein Tumorrisiko für Patienten mit Hirschsprung und deren Verwandten, die diese Mutation tragen, vorauszusagen. Beim Hirschsprung schien es zu diesem Zeitpunkt nicht sinnvoll zu sein, das RET-Gen zu testen.

Seri et al. [78] analysierten alle 20 Exons des RET-Protoonkogens und suchten nach Punktmutationen bei Hirschsprungpatienten. Sie fanden 7 neue Mutationen unter 39 sporadischen und familiären Fällen des Hirschsprungs. Beinahe 74 % der Punktmutationen wurden bei Patienten gefunden, bei denen ein langes Segment betroffen war. Diese Patienten repräsentierten allerdings nur 25% des Kollektivs.

Attie et al. [2] erwähnen, dass die meisten Fälle des M. Hirschsprung sporadischer Natur sind und nur etwa 10% familiär auftreten. Diese letztere Form hat es jedoch ermöglicht, ein autosomal-dominantes Gen auf Chromosom 10 zu lokalisieren und zu identifizieren: das RET-Protoonkogen. Dieses Gen ist verantwortlich für 50% der familiären Formen und für 15% der sporadisch auftretenden Formen. Ein zweites Gen wurde auf Chromosom 13 lokalisiert, das Endothelin-Beta-Rezeptor-Gen (EDNRB). Es wurden zwei homozygote Mutationen dieses Gens bei zwei blutsverwandten Familien entdeckt, bei denen M. Hirschsprung mit dem Waardenburg-Syndrom assoziiert war. Andere heterozygote Mutationen wurden bei Patienten mit isoliertem Morbus Hirschsprung gefunden, und bei 5% der Fälle kann davon ausgegangen werden, dass sie eine Mutation dieses Gens aufweisen.

Die Autoren haben außerdem noch eine weitere Mutation gefunden, die des Endothelin 3-Gens (EDN3), eines der Liganden des EDNRB bei einem Patienten, der sowohl das Waardenburg-Syndrom als auch M. Hirschsprung

aufwies. Diese homozygote Mutation sagt ein komplettes Fehlen des EDN3-Proteins voraus und ist deshalb das dritte bekannte Gen beim Morbus Hirschsprung.

Kenny et al. [41] hatten sich zum Ziel gesetzt, EDN3 und EDNRB mRNA Spiegel in Gewebeproben von Patienten mit sporadisch auftretendem Hirschsprung zu bestimmen. Das Ergebnis war, dass drei Kinder Sequenzvarianten bei EDN3 und EDNRB aufwiesen. Die restlichen sieben Patienten hatten reduzierte EDN3-mRNA-Spiegel, sowohl im aganglionären als auch im ganglionären Darmabschnitt. Es gab jedoch keinen Unterschied bei der EDNRB-Expression zwischen den Gruppen. Die Schlussfolgerung der Autoren ist nun, dass in Abwesenheit einer Mutation, das EDN3 beim kurz-segmentigen Hirschsprung herunterreguliert ist und dass dies ein Schritt zur Entwicklung einer Aganglionose ist.

Que et Puri [69] untersuchten auch die Spiegel der m-RNA von EDN3 und EDNRB bei Hirschsprung-Patienten. Dazu entnahmen sie von 14 Patienten Gewebeproben aus dem Kolon und stellten diesen eine Kontrollgruppe von acht Patienten ohne gastroenterale Fehlfunktion gegenüber. Sie untersuchten m-RNA aus dem ganglionären und aganglionären Segment der Hirschsprung-Patienten und aus dem normalen Darm der Kontrollgruppe. Mittels RT-PCR kamen sie zu folgenden Ergebnissen: im normalen Kolon fanden sie konstante EDN3- und EDNRB-m-RNA-Expression. Bei den Hirschsprung-Patienten waren in zwei Fällen sowohl die EDN3- als auch die EDNRB-m-RNA-Spiegel im aganglionären und im ganglionären Segment erniedrigt. Bei sechs Fällen war die EDN3-m-RNA-Expression im aganglionären Teil erniedrigt, und bei zwei Fällen war die EDNRB-m-RNA im aganglionären Segment erniedrigt. Bei den übrigen Fällen waren die Ergebnisse wie in der Kontrollgruppe. Die Autoren kommen zur gleichen Schlussfolgerung wie die zuvor erwähnten Autoren: der Verlust der EDN3- und EDNRB-Funktionen trägt zu einer Fehlentwicklung des Darmes bei.

Kobayashi et al. [42] untersuchten die Expression des ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) und das MHC Klasse II Antigen in rezidiertem Darmgewebe von 18 Hirschsprung-Patienten, die keine Zeichen einer

Enterokolitis aufwiesen und bei acht Kontrollpatienten, die in Alter und Geschlecht den Patienten angepasst waren.

Mittels Immunohistochemie stellten sie eine starke Expression von ICAM-1- und MHCII-Antigen in den hypertrophischen Nervensträngen fest. Dies lässt vermuten, dass die Expression beider Antigene im hypertrophen Nervenstrang eine immunologische Antwort beim Hirschsprung hervorruft.

Parikh et al. [65] stellen fest, dass der Hirschsprung mit Abweichungen der Verteilung und des Aufbaus der Basalmembranen und anderer extrazellulärer Matrixkomponenten im menschlichen Darm einhergeht. Sie untersuchten die mögliche Beteiligung von Nidogen beim Hirschsprung, weil dieses Glykoprotein nötig für die Bildung der Verbindungskomponenten mit der Basalmembran ist. Es wurde eine eingeschränkte Nidogen-Immunoreaktivität der Basalmembran der glatten Muskelzellen in der distalen aganglionären Zone bestimmt. Es wurden Nidogen-m-RNA-Spiegel gefunden, die signifikant niedriger waren, sowohl im proximalen als auch im distalen hirschsprungbetroffenen Darm im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Ergebnisse lassen vermuten, dass es zwar eine Störung in der Verteilung und Anhäufung des Nidogen gibt, jedoch das Gen, das dieses kodiert, nicht verantwortlich für die Läsionen ist.

Zusammenfassend kann gezeigt werden, dass es beim Morbus Hirschsprung häufig zu Mutationen verschiedener Gene, veränderter Genexpression und Deletionen kommt.

5.2 Querverweise zu assoziierten Erkrankungen

Beim Literaturstudium fällt auf, dass definierbare und oft gleichartige Veränderungen der Chromosomen und Gene bei mehreren Tumoren oder assoziierten Erkrankungen auftreten. Solche Querverweise sollen hier erörtert werden

5.2.1 Hepatoblastom

Korrelation Hepatoblastom und Beckwith-Wiedemann-Syndrom:

Steenman et al. [84] schildern, dass sporadisch auftretende Tumoren von Kindern, die mit dem Beckwith-Wiedemann-Syndrom assoziiert sind, Veränderungen derselben Region auf Chromosom 11 aufweisen.

Zusätzlich sind bei diesen Tumoren auch noch andere Chromosomenregionen betroffen. Steenman et al. untersuchten die Autoren die Chromosomenregion 1p, die an der Ätiologie der BWS-assoziierten Tumoren, dem Wilms Tumor, dem Rhabdomyosarkom und dem Hepatoblastom, beteiligt sind. Sie fanden dabei zwei neue Translokationsbruchstellen in dieser Chromosomenregion in Zellen eines Wilms Tumors und eines Rhabdomyosarkoms. Sie konstruierten eine Karte der Region und stellten fest, dass beide Bruchstellen 875 kb voneinander getrennt sind.

Korrelation Hepatoblastom und FAP:

Giardiello et al. [29] beschreiben die Verbindung zwischen dem Hepatoblastom und der Familiären adenomatösen Polyposis (FAP), die durch eine Keimzellmutation des APC-Gens auf Chromosom 5q21-q22 zustande kommt. Das Ziel war es nun, das APC-Mutationsspektrum bei Familien mit FAP und Hepatoblastomen zu analysieren, um bei Verwandten eine Früherkennungsmöglichkeit zu haben. Sie untersuchten acht Patienten mit Hepatoblastomen in 7 FAP-Familien und verglichen diese mit 97 Familien, bei denen APC-Mutationen festgestellt worden waren. Die Ergebnisse waren: APC-Mutationen in allen FAP-Familien. Es wurde eine Prädominanz der männlichen Patienten (sechs von acht) festgestellt, was den bereits bekannten Fällen in der Literatur, die die Autoren nicht näher erläutern, entspricht. Mutationen wurden auf den Codons 141 bis 1230 entdeckt, es bestand jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den Mutationsstellen der Verwandten mit und ohne Hepatoblastom. Schlussfolgernd kann man sagen, dass Hepatoblastome überwiegend bei Jungen mit FAP-Verwandten auftreten und dass dies mit einer Keimzellmutation des APC-Gens am 5`Ende assoziiert ist. Es ist jedoch nicht

möglich, dass die APC-Mutationsstelle benutzt werden könnte, um Karzinome außerhalb des Darms bei Stammbäumen mit FAP vorherzusagen.

Oda et al. [63] berichten ebenfalls über somatische Mutationen des APC-Gens bei sporadisch auftretenden Hepatoblastomen. Das Hepatoblastom ist bekannt als eine der Manifestationen außerhalb des Darms bei der FAP. Es war jedoch bis zu diesem Zeitpunkt nur ein einziges Hepatoblastom mit einer Keimzellmutation des APC-Gens bekannt.

Um nun die Rolle des APC-Gens bei sporadisch auftretenden Hepatoblastomen zu beleuchten, untersuchten sie den LOH des APC- und des MCC-Locus und machten eine Sequenzanalyse eines Teils des APC-Gens, der die Mutationsclusterregion beinhaltet. Untersucht wurden 13 Hepatoblastome bei nicht familiär auftretenden Hepatoblastomen untersucht. Die ausführlichen Ergebnisse sind auf Seite 49 beschrieben. Resümierend lässt sich sagen, dass die Mutation des APC-Gens eine wichtige Rolle bei der Tumorgenese des sporadisch auftretenden Hepatoblastoms zu spielen scheint und dass der Mechanismus der APC-Genveränderung ein anderer ist als der bei kolorektalen Tumoren.

Korrelation Hepatoblastom und Wilms Tumor:

Steenman et al. [83] untersuchten 16 Hepatoblastome mittels der komparativen Genomhybridisierung. Ihr Ziel war es, erstens eine quantitative Veränderung eines Chromosoms zu entdecken, das bei dieser Art von Tumoren auftritt und zweitens diese Ergebnisse mit ähnlichen Studien zu vergleichen, bei denen Tumoren, die mit dem Beckwith-Wiedemann-Syndrom assoziiert sind, untersucht werden. Bei diesen Vergleichen fiel nun auf, dass die Chromosomen 7q, 8q und 17q am häufigsten bei den BWS assoziierten Tumoren, dem Wilms Tumor und dem Rhabdomyosarkom vorkommen. Diese Regionen könnten Gene enthalten, die bei der Entwicklung der BWS assoziierten Tumoren eine Rolle spielen.

In der bereits auf Seite 50 beschriebenen Arbeit von **Pietsch et al. [67]** zeigt sich bei der Analyse des kurzen Arms des Chromosoms 11 (11p) ein LOH aller informationsliefernden Loci, einschließlich der Gene WT-1 und IGF2. Das WT-

1-Gen ist ein an der Pathogenese des Wilms Tumors beteiligtes Gen (siehe Kapitel 5.1.2.2).

Rainier et al. [70] beschreiben den LOI des IGF2-Gens bei 70% der Wilms Tumoren, und sie haben außerdem einen LOI des H19-Gens bei 29% der Wilms Tumoren gefunden. Bei Wilms Tumoren ist der LOI des IGF2 verbunden mit einer Herunterregulierung des H19. Der LOI wurde auch beim Rhabdomyosarkom beschrieben. Sie identifizierten fünf Hepatoblastome, die Informationen über einen transkribierten Polymorphismus des IGF2-Gens lieferten. Ein Tumor wies LOI des IGF2 auf und zeigte ebenfalls LOI des H19. Jedenfalls ist, im Gegensatz zum Wilms Tumor, ein LOI beim Hepatoblastom nicht mit einer Herunterregulierung des H19 verbunden.

5.2.2 Wilms Tumor

Korrelation Wilms Tumor und WAGR-Syndrom, Denys-Drash-Syndrom und Beckwith-Wiedemann-Syndrom:

Tsuchida et al. [88] beschreiben die Verbindung des Wilms Tumors mit dem WAGR-Syndrom, dem Denys-Drash-Syndrom und dem Beckwith-Wiedemann-Syndrom.

Die Verbindung mit solchen Syndromen ist relativ selten und betrifft weniger als 5% der Patienten mit Wilms Tumor. Das WAGR-Syndrom und das Denys-Drash-Syndrom gehen einher mit dem Verlust des WT-1-Gens, das auf Chromosom 11p13 lokalisiert ist. Das Beckwith-Wiedemann-Syndrom wird mit großer Wahrscheinlichkeit durch die Duplikation des väterlichen Allels auf Chromosom 11p15, dem Sitz des WT-2-Gens, verursacht.

Fleming et al. [25] beschreiben ebenfalls die Beteiligung des WT-2-Gens an der Verknüpfung des Wilms Tumors mit dem Beckwith-Wiedemann-Syndrom.

5.2.3 Retinoblastom

Lueder et Smith [48] sagen, dass bei Patienten mit einer Keimzellmutation des RB-1-Gens später ein erhöhtes Risiko besteht, einen nicht okulären Tumor, z. B. einen Gehirntumor zu entwickeln.

Schifter et al. [75] beschreiben den Fall eines neun Jahre alten Mädchens, das früh Retinoblastome in beiden Augen hatte und nun ein Ewing Sarkom entwickelte.

5.2.4 Neuroblastom

Haase et al. [33] beschreiben Syndrome, die mit dem Neuroblastom assoziiert sind: Opsoklonus, Horner Syndrom und Neurofibromatosis und die prognostisch von großem Nutzen sind.

5.2.5 Morbus Hirschsprung

Korrelation Morbus Hirschsprung und Retinoblastom:

Weigel et al. [94] schildern den Fall eines Jungen mit bilateralem Retinoblastom und Hirschsprung, der eine Deletion des Chromosoms 13q (q13→ q22) aufwies. Sie glauben, dass dieser Fall und der früher beschriebene Fall eines Mädchens mit Retinoblastom und M. Hirschsprung ein bisher unbekanntes Syndrom darstellen.

Korrelation Morbus Hirschsprung und Autismus:

Michaelis et al. [54] beschreiben einen Patienten mit Hirschsprung und Autismus. Nach einer Karyotypisierung zeigte sich, dass der Patient ein Deletion des Chromosoms 20p11.22-p11.23 aufwies. Weitere Analysen ergaben eine Deletion, die eine 5-6 cM große Region des von der Mutter stammenden Chromosoms 20 aufwies. Diese deletierte Stelle liegt proximal zu der bereits beschriebenen Alagille-Syndrom-Region, sie überlappt sie jedoch nicht. Diese Region wurde bis zu diesem Zeitpunkt weder mit Hirschsprung

noch mit Autismus in Verbindung gebracht. Jedenfalls könnte nach Meinung der Autoren diese Region und die enthaltenen Gene mit verantwortlich für die phänotypische Ausprägung von Erkrankungen mit falscher neuronaler Entwicklung sein.

Korrelation Morbus Hirschsprung und Waardenburg-Syndrom:

Attie et al. [2] erwähnen zwei homozygote Mutationen des EDNRB-Gens bei zwei blutsverwandten Familien, bei denen der Hirschsprung mit dem Waardenburg-Syndrom assoziiert war. Und die Autoren identifizierten eine Mutation des EDN3-Gens bei einem Patienten mit einer Kombination aus Hirschsprung und Waardenburg-Syndrom.

Hofstra et al. [36] beschreiben die Mutation des EDN3-Gens, das homozygot bei einem Patienten mit Hirschsprung und Waardenburg-Syndrom Typ 2 auftrat. Die Mutation, Cys159Phe, in Exon 3 in der ET-3 ähnlichen Domäne des EDN3, betrifft das proteolytische Processing des Präproendothelin zum EDN3-Peptid. Die Eltern des Kindes waren Cousin und Cousine.

Ederly et al. [22] schreiben die seltene autosomal-rezessive Kombination des M. Hirschsprungs und des Waardenburg-Syndroms (sogenanntes Sha-Waardenburg-Syndrom) der Mutation des EDNRB-Gens zu. Seit Mausmutanten mit dem EDNRB-Liganden EDN3 denselben Phänotyp aufwiesen, wurde das EDN3-Gen als weiteres mögliches Gen bei diesem Syndrom angesehen.

Korrelation Morbus Hirschsprung und FMTC und MEN 2A:

Pigny et al. [68] sagen, dass FMTC und MEN 2A durch eine aktivierte Keimzellmutation des RET-Protoonkogens verursacht werden. Die Mehrzahl dieser Patienten trägt eine Punktmutation, die eine von fünf Cysteinstellen betrifft, die von Exon 10 oder 11 kodiert werden. In wenigen Familien mit FMTC wurden Punktmutationen gefunden, die die nichtcysteinischen Kodons in Exon 13, 14 oder 15 kodieren. Sie beschreiben Hirschsprung als eine nichtneoplastische Erkrankung, die mit einer RET-Mutation assoziiert ist, die zu einem Funktionsverlust führt. Diese Mutationen wurden in 50% der familiären

Formen entdeckt. Sie berichteten nun über den Fall einer FMTC-Familie mit vier betroffenen Familienmitgliedern und der Anamnese einer schweren neonatalen, intestinalen Obstruktion der Schwester des Probanden. Genetische Analysen zeigten das Fehlen einer typischen FMTC-Mutation und eine 9bd-Duplikation des RET-Exons 8 im heterozygoten Zustand bei allen Patienten mit MTC. Weitere Studien sollten nun beweisen, ob diese neue Mutation nur MTC verursacht oder auch mit Hirschsprung in Verbindung steht.

Sijmons et al. [80] fanden bei 2,5-5% der sporadisch und familiär auftretenden Hirschsprung-Fälle eine Keimzellmutation des RET-Protoonkogens, die mit der Mutation, die beim MEN 2a auch auftritt, identisch ist. Sie wollten deshalb herausfinden, ob Hirschsprung-Patienten einem erhöhten Risiko ausgesetzt sind, einen Tumor zu entwickeln.

Sie kamen zu dem Ergebnis, dass von den 60, auf RET-Mutationen untersuchten Patienten, nur 22 Patienten zusätzlich eine MEN 2a typische Mutation aufwiesen. Es ist also sehr schwierig ein Tumorrisiko für diese Patienten, die diese Mutation tragen, vorauszusagen. Sie empfehlen jedoch bei einer Kombination von MEN 2a und Hirschsprung einen RET-Genetest der Familie, ein Tumorscreening und eine prophylaktische Thyreoidektomie.

Borrego et al. [10] beschreiben in ihrer Arbeit die Verbindung von MEN 2a und Hirschsprung mit einer einzelnen C620S-Punktmutation auf einem der Cystein Kodons der extrazellulären Domäne des RET-Protoonkogens. Sie spekulierten außerdem über die Rolle einer stillen Mutation im Exon 2 desselben Gens, die in homozygotem Zustand bei einem Patienten mit MEN 2a und Hirschsprung vorhanden war. Um die Rolle des GDNF in diesem Zusammenhang zu klären, untersuchten sie außerdem die Kodierungsregion des GDNF bei diesem Patienten, fanden aber keine Mutationen.

Decker et Peacock [21] verfolgten mit ihrer Untersuchung das Ziel, die Prävalenz des Hirschsprung beim MEN 2a zu erhalten und die Möglichkeiten des Gentests bei Kindern mit familiärer Hirschsprungerkrankung zu testen. Ein ethisches Komitee bestand auf nicht selektierten und konsekutiven Patienten (n=426) mit einem Risiko für MTC (= medullary thyroid cancer), die von einem einzigen genetischen Labor getestet wurden. Es wurden die Exons 10, 11, 13

und 14 des RET-Protoonkogens getestet. Aus den Ergebnissen zogen die Forscher folgende Schlussfolgerungen: Hirschsprung ist ein phänotypischer Marker für MEN 2a. Das Auftreten des Morbus Hirschsprung mit MEN 2a könnte mit einer Mutation des Exons 10 des RET-Gens verbunden sein. Patienten, die von MEN 2 betroffen sind, sollten dahingehend beraten werden, dass sie ein erhöhtes Risiko haben, Hirschsprung an ihre Nachkommen weiterzuerben. Es sollte eine Familienanamnese auf MTC bei Kindern mit familiärem Hirschsprung gemacht werden und ein genetisches Screening auf MEN 2a in Betracht gezogen werden.

Blank et al. [7] analysierten ebenfalls die Exons 10, 11, 13 und 16 des RET-Gens auf Mutationen bei sechs Verwandten mit MEN 2a und bei sechs Patienten mit sporadisch aufgetretener Erkrankung, um die Geno- und Phänotypen zu korrelieren. Einer dieser Verwandten hatte sowohl Hirschsprung als auch MEN 2a mit einer Vertauschung des Cystein in Arginin auf Kodon 620 des RET-Gens. Ein Patient mit sporadisch aufgetretener Hirschsprung-Erkrankung hatte eine M918T-Mutation.

Die Patienten mit bestätigtem familiärem Hirschsprung waren alle Träger einer pathologischen Keimzellmutation des RET-Gens.

Korrelation Morbus Hirschsprung und Goldberg-Shprintzen-Syndrom :

Brooks et al. [14] beobachteten in einer großen marokkanischen, blutsverwandten Familie das Auftreten von Morbus Hirschsprung, geistiger Retardierung, Mikrozephalie und einem spezifischen kraniellen Dysmorphiezeichen. Ein viertes Kind wies das gleiche klinische Bild auf, bis auf den Hirschsprung. Die Verbindung dieser Abnormalitäten dieser Kinder steht für das Goldberg-Shprintzen-Syndrom (OMIM 235730). Die Suche nach Mutationen der mit großer Wahrscheinlichkeit beim Hirschsprung betroffenen Gene RET, GDNF, EDN3 und EDNRB ergab eine Sequenzvariation Ser305Asn in Exon 4 des EDNRB-Gens. Diese Substitution , die bei zwei von vier Patienten und vier gesunden Verwandten vorhanden war, war nicht vorhanden bei einem der zwei verbleibenden Patienten. Dies zeigt die Schwierigkeiten bei der Interpretation der vorhandenen Mutationen bei Familien mit Hirschsprung.

Es ist also unwahrscheinlich, dass EDNRB-Veränderungen zu diesem Phänotyp führen.

Korrelation Morbus Hirschsprung und Neuroblastom:

Maris et al. [51] kamen nach Untersuchungen von 18 Familien, von denen bei 49 schon im Kindesalter Neuroblastome diagnostiziert worden waren, zu dem Schluss, dass die neuroblastomauslösenden Gene vom Neuroblastosuppressorgen auf Chromosom 1p36 und von zwei Hirschsprung auslösenden Genen stammen. Es spricht jedoch alles gegen eine Verbindung zu zwei Hirschsprung-Genen: RET und EDNRB.

Korrelation Morbus Hirschsprung und BRESHECK:

Reish et al. [71] beschreiben die Fälle zweier Halbbrüder (durch die Mutter miteinander verwandt), die dasselbe Syndrom der Mikrozephalie und eine Erweiterung des Spinalkanales mit Verschmelzung des Thalamus bei einem der Brüder. Die Abkürzung BRESHECK vereint alle Symptome, die die Brüder aufwiesen: Gehirn (**b**rain), Entwicklungsverzögerung (**r**etardation), ektodermale Dysplasie (**e**ctodermal dysplasia), Skelettdeformierungen (**s**keletal deformities), Hirschsprung, Ohr- und Augenanomalien (**e**ar/**e**ye anomalies), Gaumenspalte und Kryptorchismus (**c**left palate/ **c**ryptorchidism) und Nierendysplasie oder –hypoplasie (**k**idney dysplasia/hypoplasia).

Dieses Syndrom wurde bis zu diesem Zeitpunkt noch nicht beschrieben und könnte durch eine X-chromosomale Mutation verursacht sein.

Fazit:

Bei der Betrachtung der Korrelationen wird deutlich, dass nicht bei allen betrachteten Erkrankungen von einer gesicherten gemeinsamen Pathogenese ausgegangen werden kann. Vielmehr handelt es sich oft um Fallbeschreibungen, bei denen eine Korrelation zwischen den für diese Arbeit relevanten Tumoren und dem sporadisch auftretenden Morbus Hirschsprung und anderen Syndromen auftritt.

Ein Beispiel für einen gemeinsamen Pathogeneseweg ist aber wahrscheinlich die Korrelation des Morbus Hirschsprung und MEN 2a. Dagegen ist eine Korrelation zwischen Morbus Hirschsprung und Autismus eher ein Zufallsbefund.

5.3 Klinische Relevanz in prognostischer und therapeutischer Hinsicht

5.3.1 Hepatoblastom

Für das Hepatoblastom sind die vorliegenden Ergebnisse derart uneinheitlich und oft widersprüchlich, so dass sich aus den genetischen Analysen noch keine eindeutige Relevanz für die Therapie und Prognose erarbeiten lässt. Trotzdem schlagen einige Autoren bereits bestimmte Vorgehensweisen vor. Sie können aber nur als unbegründet und spekulativ gelten, da die Pathogenese des Hepatoblastoms keineswegs eindeutig und vollständig geklärt ist.

Park et al. [66] sehen die Lokalisation des Beta-catenins als wichtigen prognostischen Faktor beim Hepatoblastom an. Sie untersuchten in 30 Hepatoblastomen das Beta-catenin auf Mutationen und machten immunohistochemische Analysen, um die Veränderungen im Wnt-pathway in bezug auf pathologische Parameter und die Überlebenschance zu verstehen. Sie fanden vier missense-Mutationen des Beta-catenins und eine hohe Immunoreaktivität des Beta-catenins im Zytoplasma und/oder Nukleus bei 97% der Hepatoblastome. Nukleäre und zytoplasmatische Färbungen zeigten sich in 19 von 30 Tumoren, wohingegen bei 10 nur eine zytoplasmatische Färbung entstand. Statistisch gesehen war die nukleäre Beta-Catenin-Färbung bei dem embryonalen (Fisher exact test; $p=0,00393$) oder undifferenzierten Typ ($p=0,00156$) signifikant höher als bei dem fetalen Typ. Es gab jedoch keinen Unterschied zwischen klinischem Grad I und II und klinischem Grad III und IV ($p=0,175$). Kumulative Überlebenskurven zeigten, dass die nukleäre verstärkte Beta-catenin-Färbung (generalisierter Wilcoxon Test; $p=0,0088$), für den

undifferenzierten Histologietyp ($p=0,0305$) und die klinischen Grade III und IV ($p= 0,0107$) signifikant mit einer kürzeren Überlebenszeit dieser Patienten korreliert waren. Cox-Analysen bekräftigen die Vermutung noch, dass die nukleäre Beta-catenin-Färbung der wichtigste prognostische Faktor für die Überlebenszeit ($p=0,0090$) darstellt. Die Autoren ziehen deshalb daraus die Schlussfolgerung, dass die immunhistochemische Analyse des Beta-catenins ein nützliches klinisches Werkzeug für die Formulierung der Prognose bei Patienten mit Hepatoblastom darstellen könnte.

Weber et al. [92] unterteilten ihre Patienten in zwei Gruppen nach der Standardtherapie: Patienten mit einem guten Ausgang der Erkrankung, ohne Zeichen der Krankheitsprogredienz und Patienten mit schlechtem Ausgang, die an der Erkrankung verstarben. Bei den Patienten mit schlechtem Ausgang wurden gefunden: Zugewinn an genetischem Material auf Chromosom 8q ($P=0.007$) und Zugewinn auf Chromosom 20 ($P= 0,009$). Die Autoren sehen darin die Möglichkeit, diesen Befund als Marker für die Prognose des Patienten mit Hepatoblastom zu nutzen.

Akmal et al. [1] untersuchten die Expression des IGF2 und des IGFBP2 in 11 Hepatoblastomen. Die Ergebnisse zeigten, dass beide Transkripte in den Hepatoblastomen vorhanden waren und deren Expression umkehrt mit dem Grad der Tumorzellendifferenzierung korreliert, zu wie viel Prozent wird nicht näher erläutert. Diese Daten lassen darauf schließen, dass die IGF2- und die IGFBP2-Genexpression als Marker für den Grad der Tumordifferenzierung dienen könnte.

Fazit:

Es geht aus den recherchierten Ergebnissen nicht eindeutig hervor, welche Befunde Beweiskraft für die Therapie und Prognose des Hepatoblastoms haben. Die meisten Autoren beschreiben ihre Ergebnisse zwar als Möglichkeit Schlussfolgerungen für Therapie und Prognose ableiten zu können, nennen aber keine konkreten Daten, die für den Umgang mit dem Hepatoblastom beweisend sind.

5.3.2 Wilms Tumor

In den letzten 25 Jahren ist es gelungen, die Überlebensrate bei Kindern mit malignen soliden Tumoren von 56% auf 75% zu erhöhen. Der Zusammenschluss verschiedener Disziplinen wie Chirurgie, Chemotherapie und Radiologie spielte dabei eine große Rolle. **Grosfeld [32]** beschreibt, wie das Betrachten biologischer und genetischer Faktoren eine Risikoeinteilung erlaubte und dadurch zu neuen Behandlungsprotokollen führte. Dies ist auch in Bezug auf den Wilms Tumor geschehen. Der Autor geht jedoch nicht detailliert darauf ein.

Wiener et al. [96] sehen die Chromosomenregionen 16q und 1p als mögliche prognostische Faktoren an, um die Intensität der Therapie zu bestimmen. Zukünftige Protokolle von pädiatrischen Onkologen sollten ihrer Meinung nach biologische Studien beinhalten. Das Ziel sei es, Patienten mit einem niedrigen Risiko zu erkennen, um die Behandlung moderater zu gestalten und die Toxizität herunterzusetzen. Und Kinder mit erhöhtem Risiko können intensiver behandelt werden.

Tamaro [85] beschreibt die verbesserten Behandlungsmöglichkeiten von Kindern mit Wilms Tumor durch gut definierte Risikofaktoren wie Histologie, Gradeinteilung und molekulare Marker. Um die Behandlung und die Forschung in bezug auf den Wilms Tumor zu verbessern, bildeten sich große Forschungsgruppen, wie die National Wilms Tumor Study Group (NWTSG) in den USA, die multinationale SIOP-Studiengruppe in Europa, die englische Gruppe, die italienische Gruppe (CNR-AIEOP) und eine brasilianische Gruppe. Große Fortschritte wurden gemacht durch histopathologische Studien, bei denen die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt wurden: günstige und ungünstige Histologie. Später wurden diese noch unterteilt in anaplastische Tumoren (fokal oder diffus), Klarzelltumoren und rhabdoide Tumoren.

Es wurden weiterhin mögliche prognostische, chromosomale Faktoren, wie der LOH der 16q Marker und LOH der 1p Marker entdeckt. Die Ergebnisse der Wilms Tumor-Behandlung sind heute sehr gut. Die Vier-Jahres-Überlebensrate beträgt bei Grad 1 mit günstiger und anaplastischer Histologie 92%, bei Grad 2 mit günstiger Histologie 88%, bei Grad 3 mit günstiger Histologie 79% und bei

Grad 4 und Grad 2, 3 und 4 mit ungünstiger Histologie 71%. Die Spätfolgen, nach geheiltem Wilms Tumor an einer Herzinsuffizienz zu erkranken, liegen bei weniger als 1,7% und das Risiko, an einem zweiten Tumor zu erkranken, bei weniger als 1%. Die wichtigste Spätfolge jedoch bleibt das Rezidiv mit einem Risiko von 14-20%.

5.3.3 Retinoblastom

Das Retinoblastom entsteht durch die Mutation beider Allele des RB-1-Gens. Dieses molekularbiologische Merkmal bietet also ein Instrument für die Diagnose und Früherkennung der Erkrankung (siehe auch Kapitel 5.1.3.2 Gene).

Minoda et al. [55] schildert, dass der Fortschritt bei der molekularen Genetik es möglich gemacht hat, eine präsymptomatische Vorhersage beim hereditären Retinoblastom, basierend auf der RB-Gendiagnose, machen zu können. Sie verwendeten dazu PCR mit SSCP und Heteroduplexanalyse, um Leukozyten-DNA, Exon für Exon bei Patienten mit bilateralem Retinoblastom untersuchen zu können. In zwei Familien war diese präsymptomatische Vorhersage bei zwei Neugeborenen durch diese Methode möglich. Der Autor erwartet auch, dass diese Methode nicht nur beim bilateralen Retinoblastom möglich ist, sondern auch bald beim unilateralen Retinoblastom eine genetische Beratung erfolgreich sein könnte.

Gallie et al. [27] sagen, dass das vollständige Verstehen der Genetik des Retinoblastoms den Patienten sehr geholfen hat, da die Möglichkeit entstand, die RB-1-Genmutation in Familien zu identifizieren und eine Vorhersage zu treffen, ein Retinoblastom zu entwickeln.

5.3.4 Neuroblastom

Das Onkogen N-myc wird als Marker für eine sehr schlechte Prognose angesehen. Zusammen mit Veränderungen des Chromosoms 1, der Höhe der

TRK-A-Expression und diploidem Chromosomensatz sind dies die Faktoren für die Prognosestellung und die Wahl des Therapieschemas. Die Autoren **Brodeur et al. [11]**, **Brodeur et al. [12]**, **Tschuida et al. [89]**, **Harms [34]** und **Bordow et al. [9]** beschreiben in ihren Arbeiten diese Zusammenhänge.

Sawada et al. [74] stellen Behandlungsschemata von Neuroblastompatienten vor, die nach Alter, Grad und anderen prognostischen Faktoren, wie z.B. N-myc-Amplifikation, TRK-A-Überexpression und Chromosomenanomalien, eingeteilt werden sollten. Als allgemeine Regeln sollten Patienten unter einem Jahr ohne ungünstige prognostische Faktoren mit einer weniger intensiven Behandlung behandelt werden, auch wenn ihre Tumoren in einem progressiven Stadium sind. Umgekehrt sollten jedoch Patienten mit progressiven Stadien über einem Jahr ohne ungünstige Faktoren mit einem intensiven Protokoll behandelt werden. Weiterhin sollten Patienten aller Altersgruppen mit ungünstigen Faktoren eine sehr starke und intensive Behandlung erhalten.

5.3.5 Morbus Hirschsprung

Beim Morbus Hirschsprung gibt es aus den genetischen und molekularbiologischen Untersuchungen noch keine Ergebnisse, die für die Prognose und Früherkennung dienen könnten. Die Analyse der drei Hirschsprung-Gene RET-Protoonkogen, EDN3 und EDNRB stellt aber perspektivisch eine Möglichkeit dar, die Richtung der Diagnostik vorzugeben. (siehe Kapitel 5.1.5)

5.4 Tumormodell

Die Auswertung der genannten Berichte (1-100) zeigt, dass ein Modell der Tumorentstehung bei Betrachtung der genetischen Aspekte von verschiedenen Veränderungen des genetischen Materials ausgehen muss. Häufig sind Amplifikationen, Trisomien, Deletionen, Verluste und Gewinne an genetischem

Material zu beobachten. Eine Uniformität der Veränderungen im Hinblick auf ein einheitliches Tumormodell besteht nicht.

Auf die genannten und andere Veränderungen des genetischen Materials soll im Folgenden getrennt für jedes Blastom und den Morbus Hirschsprung nochmals eingegangen werden.

5.4.1 Hepatoblastom

Weber et al. [92] identifizierten bei zwei Tumoren stark amplifizierte Sequenzen auf Chromosom 2q24 und auf Chromosom 10q24-q26.

Parada et al. [64] vermuten, dass die Trisomie 2 und 20 bei der Ausbildung des Hepatoblastoms eine Rolle spielt und **Hu et al. [37]** fanden in ihren Untersuchungen als häufigste Anomalie die Trisomie des Chromosoms 2 und 20.

Nagata et al. [60] beschreiben ebenfalls zwei Trisomien des Chromosoms 2 und in einem Fall eine Trisomie 8.

Balogh et al. [5] und **[6]** kamen zu dem Ergebnis, dass in ihrem untersuchten Fall eine partielle Trisomie des Chromosoms 2 durch eine Insertion in das Chromosom 9 entstanden ist.

Bove et al. [8] kamen zu dem Schluss, dass die Trisomie 18 prädispositionierend für das Hepatoblastom und den Wilms Tumor zu sein scheint.

Wie et al. [93], **Koch et al. [43]**, **Jeng et al. [40]**, **Giardiello et al. [28]** und **Oda et al. [62]** beschreiben den Funktionsverlust des APC-Tumorsuppressorgens.

5.4.2 Wilms Tumor

Erzsebet et al. [23] beschreibt den Fall eines Kindes mit Wilms Tumor, das eine Deletion des Chromosoms 11p13 aufwies.

Feinberg [24] beschreibt multiple genetische Veränderungen des Chromosoms 11p15, das ein Tumorsuppressorgen (WT-2) beinhaltet.

Wiener et al. [96], Fleming [25] und Tay [86] vermuten bei der Pathogenese des Wilms Tumors das WT-1-Tumorsuppressorgens eine Rolle spielt.

Fleming [25] beschreibt die Mutation des c-met-Protoonkogens.

5.4.3 Retinoblastom

Weigel et al. [94], Cohen [19] und Munier et al. [59] nennen die Deletion des Chromosoms 13q.

Gallie et al. [27] sagen, dass in manchen Retinoblastomen das N-myc-Onkogen amplifiziert ist.

5.4.4 Neuroblastom

Mora et al. [57] beobachteten eine häufige Deletion des kurzen Arms des Chromosom 1 (1p).

Da Silva et al. [20], Brodeur et al. [13], Tsuchida et al. [89], Sawada et al. [74], Harms [34], Brodeur [11] und [12], Girgert et al. [29], Schwab [76] und [77] und Bordow et al. [9] sehen in der Deletion des Chromosoms 1p und der Amplifikation des N-myc-Gens, die Faktoren, die für die Tumorgenese des Neuroblastoms verantwortlich sind.

5.4.5 Morbus Hirschsprung

Wakamatsu et al. [91] berichten über eine Deletion auf Chromosom 2q22, und auch **Mowat et al. [58]** finden bei einem Patienten eine Deletion des Chromosoms 2 (del(2)(q21;q23)).

Shimotake et al. [79], Attie et al. [2], Martucciello et al. [52] und [53], Auricchio et al. [3], Inoue et al. [38], Griseri et al. [31], Sijmons et al. [80] und Seri et al. [78] beschreiben die Mutation des RET-Protoonkogens.

Weigel et al. [94] schildern den Fall eines Jungen, der eine interstitielle Deletion des Chromosoms 13q (q13→q22) aufwies.

Michaelis et al. [54] karyotypisierten einen Patienten mit Morbus Hirschsprung und dies ergab eine Deletion des Chromosoms 20p11.22-p11.23.

5.5 Methodenkritik

Die enormen Unterschiede und Widersprüche in den Aussagen der verschiedenen Autoren besonders bezüglich des Hepatoblastoms, lassen die Frage aufkommen, ob die unterschiedlichen Ergebnisse das Resultat der unterschiedlich angewandten Untersuchungsmethoden sein kann. Die angewandten Methoden sind z.B. Karyotypisierungen, verschiedenartige PCR-Untersuchungen, zytogenetische Untersuchungen und die FISH-Technik. Außerdem wurden die Untersuchungen zum einen an kultivierten Zelllinien, z. B. von **Pietsch et al. [67]**, **Weber et al. [92]** und zum anderen an nativen Primärtumoren untersucht, z.B. auch von **Weber et al. [92]**.

In Anbetracht der angewandten verschiedenen Methoden bleibt die Vermutung, dass die unterschiedlichen und widersprüchlichen Aussagen für das Hepatoblastom das Resultat der nicht gleichartigen Methodik ist.

Es ist auch fraglich, ob die Aussagen vergleichbar und verwertbar sind, weil in vielen Berichten besonders von **Pietsch et al. [67]** und **Weber et al. [92]** nicht erkennbar ist, ob die verschiedenen Autoren und Publikationen einer Forschungsgruppe die gleichen oder verschiedene Untersuchungsmaterialien benutzt haben. Diese Frage muss besonders bei der Betrachtung der Literatur zum Hepatoblastom gestellt werden.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Um das umfangreiche wissenschaftliche Material über die Entstehung des Hepatoblastoms, des Neuroblastoms, des Wilms Tumors, des Retinoblastoms und des Morbus Hirschsprung kritisch zu sichten und eine Wissensgrundlage zur Genetik der blastomatösen Tumoren und einer Fehlbildung zusammenzustellen, wurde in der *medline* recherchiert. In der Literatursuche wurden eine definierte kinderchirurgische Erkrankung, die Genetik, das Patientenalter (0-18 Jahre) und der Publikationszeitraum 1995 bis 2001 als Stichworte eingegeben. Besonders beachtet wurden in der Auswertung die widersprüchliche Aussagen der Autoren.

Im Kapitel zu den Ergebnissen wurden die Aussagen der verschiedenen Autoren zu den Veränderungen der Chromosomen und der Gene sowie die Verknüpfungen zu anderen Erkrankungen dargestellt.

Hinsichtlich der Pathogenese des Hepatoblastoms wurde eine umfangreiche Reihe von Chromosomen und genetischen Faktoren identifiziert. Es gibt, nach der Durchsicht des Schrifttums fast kein Chromosom, das nicht betroffen sein soll. Somit gibt es Hinweise, dass bei der Entstehung des Hepatoblastoms ein Zusammenspiel mehrerer Gene und Proteine eine Rolle spielen könnte. Auffällig waren die zahlreichen Verknüpfungen des Hepatoblastoms zu anderen Erkrankungen, z.B. zum FAP, zum Wilms Tumor, zum Beckwith-Wiedemann-Syndrom und zum Rhabdomyosarkom. Die häufigen Assoziationen überraschen nicht, wenn die Veränderungen an fast jedem Chromosom und Gen bedacht wird.

Die Ergebnisse zur Genetik und Pathogenese des Wilms Tumors sind dagegen wesentlich übersichtlicher. Es lassen sich sowohl veränderte Chromosomen, nämlich die Chromosomen 1, 3, 7, 11, 14, 16 und das X-Chromosom, als auch Gene, nämlich das WT-1-Gen, das WT-2-Gen, das WT-3-Gen, das VHL-Gen und das c-met-Protoonkogen eindeutig zuordnen. Verbindungen des Wilms

Tumors zu anderen Syndromen bestanden zum WAGR-Syndrom, zum Denys-Drash-Syndrom und zum Beckwith-Wiedemann-Syndrom.

In der Betrachtung der Pathogenese des Retinoblastoms liessen sich eindeutig zwei aufeinander folgende Mutationen am RB-1-Gen in der Region 13q14 als die auslösenden Faktoren für das Tumorwachstum bestimmen. Es wurden Verbindungen zwischen dem Retinoblastom und dem Morbus Hirschsprung sowie dem Ewing Sarkom gefunden.

Das Neuroblastom zeigt in seiner Pathogenese ebenfalls charakteristische genetische Veränderungen: N-myc-Genamplifizierung, Deletion am kurzen Arm des Chromosoms 1 und verminderte Expression des CD44-Gens. Syndrome, die mit dem Neuroblastom assoziiert sein können, sind zum Beispiel: der Opsoklonus, das Horner-Syndrom, die Neurofibromatose und verschiedene Neurokristopathien, die jedoch alle keinen genetischen sondern eher einen anatomischen Zusammenhang haben. Für die Prognose spielen sie eine erhebliche Rolle.

Auch beim Morbus Hirschsprung werden mehrere Chromosomen und Faktoren in Betracht gezogen, die für die Pathogenese verantwortlich sind. Betroffen sind die Chromosomen 2, 10, 13, 20, 21 und das X-Chromosom, die Gene RET, EDN3, EDNRB, GDNF, ECE1, SOX10 und SIP1. Beim Morbus Hirschsprung bestehen Verbindungen zum Retinoblastom, zur MEN, zur FMTC, zum Waardenburg-Syndrom, zum Goldberg-Shprintzen-Syndrom, zum Autismus und zum BRESHECK-Syndrom.

7 LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Akmal, S.N., Yun, K., MacLay, J., Higami, Y., Ikeda, T. (1995)
Insulin-like growth factor 2 and insulin-like growth factor binding protein 2
expression in hepatoblastoma
Human pathol. 26(8): 846-851
- 2 Attie, T., Amiel, J., Jan, D., Ederly, P., Pelet, A., Salomon, R., Munnich,
A., Lyonnet, S., Nihoul-Fekete, C. (1996)
Genetique de la maladie de hirschsprung
Ann Chir. 50(7): 538-541
- 3 Auricchio, A., Casari, G., Staiano, A., Ballabio, A. (1996)
Endothelin-B receptor mutations in patients with isolated Hirschsprung
disease from non-inbred population
Hum Mol Genet. 5(3): 351-354
- 4 Bader, P., Fuchs, J., Wenderoth, M., von Schweinitz, D., Niethammer,
D., Beck, J.F. (1998)
Altered expression of resistance associated genes in hepatoblastoma
xenografts incorporated into mice following treatment with adriamycin or
cisplatin
Anticancer Res. 18(4C): 3127-3132
- 5 Balogh, E., Swanton, S., Kiss, C., Jakab, Z., Secker-Walker, L.M., Olah,
E. (1997)
A 2q21-qter regio trisomiaja hepatoblastomaban
Orv Hetil. 138(50): 3179-3183
- 6 Balogh, E., Swanton, S., Kiss, C., Jakab, Z.S., Secker-Walker, L.M.,
Olah, E. (1998)
Fluorescence in situ hybridization reveals trisomy 2q by insertion into 9p
in hepatoblastoma
Cancer Genet Cytogenet. 102(2): 148-150
- 7 Blank, R.D., Sklar, C.A., Dimich, A.B., LaQuaglia, M.P., Brennan, M.F.
(1996)
Clinical presentations and RET protooncogene mutations in seven
multiple endocrine neoplasia type 2 kindreds
Cancer. 78(9): 1996-2003
- 8 Bove, K.E., Soukup, S, Ballard, E.T., Ryckman, F (1996)
Hepatoblastoma in a child with trisomy 18: cytogenetics, liver anomalies,
and literature review
Pediatr Pathol Lab Med. 16(2): 253-262

- 9 Bordow, S.B., Norris, M.D., Haber, P.S., Marshall, G.M., Haber, M. (1998)
Prognostic significance of MYCN oncogene expression in childhood neuroblastoma
J Clin Oncol 16(10): 3286-3294
- 10 Borrego, S., Eng, C., Sanchez, B., Saez, M.E., Navarro, E., Antinolo, G. (1998)
Molecular analysis of the RET and GDNF genes in a family with multiple endocrine neoplasia type 2A and Hirschsprung disease
J Clin Endocrinol Metab. 83(9): 3361-3364
- 11 Brodeur, G.M. (1995a)
Molecular basis for heterogeneity in human neuroblastomas
Eur J Cancer 31A(4): 505-510
- 12 Brodeur, G.M. (1995b)
Genetics of embryonal tumours of childhood: retinoblastoma, Wilms tumour and neuroblastoma
Cancer Surv: 2567-2599
- 13 Brodeur, G.M., Maris, J.M., Yamashiro, D.J., Hogarty, M.D., White, P.S. (1997)
Biology and genetics of human neuroblastomas
J Pediatr Hematol Oncol. 19(2): 93-101
- 14 Brooks, A.S., Breuning, M.H., Osinga, J., vd Smagt, J.J., Catsman, C.E., Buys, C.H., Meijers, C., Hofstra, R.M. (1999)
A consanguineous family with Hirschsprung disease, microcephaly, and mental retardation (Goldberg-Shprintzen syndrome)
J Med Genet. 36(6): 485-9
- 15 Buselmaier, W., Tariverdian, G. (1999a)
Tumorgenese, 169-172
In: Buselmaier, W., Tariverdian, G.: Humangenetik
2. Aufl., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- 16 Buselmaier, W., Tariverdian, G. (1999b)
Aufbau eines Chromosoms, 13-15
In: Buselmaier, W., Tariverdian, G.: Humangenetik
2. Aufl., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- 17 Buselmaier, W., Tariverdian, G. (1999c)
Aufbau der Gene- Gen-Definition, 6-10
In: Buselmaier, W., Tariverdian, G.: Humangenetik
2.Aufl., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

- 18 Buselmaier, W., Tariverdian, G. (1999d)
Prinzipien der Genlokalisierung, 15-20
In: Buselmaier, W., Tariverdian, G.: Humangenetik
Aufl., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- 19 Cohen, D. G. (1992)
Retinoblastoma: a hereditary tumor in children
Semin Oncol Nurs 8(4): 235-240
- 20 Da Silva, J., Duarte, N., Cappellen, D., Bettan-Renaud, L., Dubourg, C., Ferrandis, E., Guigay, J., Schrod, S., Mcdowell, H., Barrois, M., Ahomadegbe, J.C., Terrier-Lacombe, M.J., Bourhis, J., Hartmann, O., Benard, J. (1998)
Facteurs oncogeniques de la dissemination metastatique du neuroblastome
C R Seances Soc Biol Fil 192(2): 261-271
- 21 Decker, R.A., Peacock, M.L. (1998)
Occurrence of MEN 2a in familial Hirschsprung`s disease: a new indication for genetic testing of the RET proto-oncogen
J Pediatr Surg 33(2): 207-214
- 22 Edery, P., Attie, T., Amiel, J., Pelet, A., Eng, C., Hofstra, R.M., Martelli, H., Bidaud, C., Munnich, A., Lyonnet, S. (1996)
Mutation of endothelin-3 gene in the Waardenburg-Hirschsprung disease (Sha-Waardenburg syndrome)
Nat Genet 12(4): 442-444
- 23 Erzsebet, B., Andrea, N., Robert, S., Eva, O. (1996)
A veleszuletett kromoszoma-rendellenessegek es a malignus megbetegedések tarsulasa [Association of congenital chromosome abnormalities and malignant disease]
Orv Hetil 137(5): 227-231
- 24 Feinberg, A.P. (1996)
Multiple genetic abnormalities of 11p15 in Wilms` tumor
Med Pediatr Oncol 27(5): 484-489
- 25 Fleming, S. (1998)
Genetics of kidney tumours
Forum (Genova) 8(2): 176-184
- 26 Fukuzawa, R., Umezawa, A., Ochi, K., Urano, F., Ikeda, H., Hata, J. (1999)
High frequency of inactivation of the imprinted H19 gene in "sporadic" hepatoblastoma
Int J Cancer 82(4): 490-497

- 27 Gallie, B.L., Dunn, J.M., Chan, H.S., Hamel, P.A., Phillips, R.A. (1991)
The genetics of retinoblastoma. Relevance to the patient
Pediatr Clin North Am 38(2): 299-315
- 28 Giardiello, F.M., Petersen, G.M., Brensinger, J.D., Luce, M.C., Cayouette, M.C., Bacon, J., Booker, S.V., Hamilton, S.R. (1996)
Hepatoblastoma and APC gene mutation in familial adenomatous polyposis
Gut 39(96): 867-869
- 29 Girgert, R., Treuner, J., Schweizer, P. (1996)
Molekularbiologische Merkmale des Neuroblastoms als Grundlage eines Therapiekonzepts
Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd: 1131053-1131055
- 30 Gray, S.G., Kytola, S., Matsunaga, T., Larsson, C., Ekstrom, T.J. (2000)
Comparative genomic hybridization reveals population-based genetic alterations in hepatoblastomas
Br J Cancer 83(8): 1020-1025
- 31 Griseri, P., Sancandi, M., Patrone, G., Bocciardi, R., Hofstra, R., Ravazzolo, R., Devoto, M., Romeo, G., Ceccherini, I. (2000)
A single-nucleotide polymorphic variant of the RET proto-oncogene is underrepresented in sporadic Hirschsprung disease
Eur J Hum Genet 8(9): 721-724
- 32 Grosfeld, J.L. (2000)
Risk-based management of solid tumors in children
Am J Surg 180(5): 322-327
- 33 Haase, G.M., Perez, C., Atkinson, J.B. (1999)
Current aspects of biology, risk assessment, and treatment of neuroblastoma
Semin Surg Oncol 16(2): 91-104
- 34 Harms, D. (1995)
New entities, concepts, and questions in childhood tumor pathology
Gen Diagn Pathol 141(1): 1-14
- 35 Hartmann, W., Waha, A., Koch, A., Goodyer, C.G., Albrecht, S., von Schweinitz, D., Pietsch, T. (2000)
P57(KIP2) is not mutated in hepatoblastoma but shows increased transcriptional activity in a comparative analysis of the three imprinted genes p57(KIP2), IGF2, and H19
Am J Pathol 157(4): 1393-1403

- 36 Hofstra, R.M., Osinga, T., Tan-Sindhunata, G., Wu, Y., Kamsteeg, E.J., Stulp, R.P., van Ravenswaaij-Arts, C., Majoor-Krakauer, D., Angrist, M., Chakravarti, A., Meijers, C., Buys, C.H. (1996)
A homozygous mutation in the endothelin-3 gene associated with a combined Waardenburg type 2 and Hirschsprung phenotype (Shah-Waardenburg syndrome)
Nat Genet 12(4): 445-447
- 37 Hu, J., Wills, M., Baker, B.A., Perlman, E.J.
Comparative genomic hybridization analysis of hepatoblastoma
Genes Chromosomes Cancer 27(2): 196-201
- 38 Inoue, K., Shimotake, T., Iwai, N. (2000)
Mutational analysis of RET/GDNF/NTN genes in children with total colonic aganglionosis with small bowel involvement
Am J Med Genet 93(4): 278-284
- 39 Iolascon, A., Giordani, L., Moretti, A., Basso, G., Borriello, A., Della-Ragione, F. (1998)
Analysis of CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, and cyclin Ds gene status in hepatoblastoma
Hepatology 27(4): 989-995
- 40 Jeng, Y.M., Wu, M.Z., Mao, T.L., Chang, M.H., Hsu, H.C. (2000)
Somatic mutations of beta-catenin play a crucial role in the tumorigenesis of sporadic hepatoblastoma
Cancer Lett 152(1): 45-51
- 41 Kenny, S., Hofstra, R.M., Buys, C.H., Vaillant, C.R., Lloyd, D.A., Edgar, D.H. (2000)
Reduced endothelin-3 expression in sporadic Hirschsprung disease
Br J Surg 87(5): 580-585
- 42 Kobayashi, H., Hirakawa, H., Puri, P. (1995)
Overexpression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and MHC class II antigen on hypertrophic nerve trunks suggests an immunopathologic response in Hirschsprung's disease
J Pediatr Surg 30(12): 1680-1683
- 43 Koch, A., Denkhaus, D., Albrecht, S., Leuschner, I., von Schweinitz, D., Pietsch, T. (1999)
Childhood hepatoblastomas frequently carry a mutated degradation targeting box of beta-catenin gene
Cancer Res 59(2): 269-273

- 44 Kostyk, E., Pietrzyk, J.J. (1999)
Genetyczne podłoże siatkowczaka płodowego
[Genetic background of retinoblastoma]
Med Wieku Rozwoj 3(1): 33-40
- 45 Kraus, J.A., Albrecht, S., Wiestler, O.D., von Schweinitz, D., Pietsch, T. (1996)
Loss of heterozygosity on chromosome 1 in human hepatoblastoma
Int J Cancer 67(4): 467-471
- 46 Kusafuka, T., Fukuzawa, M., Oue, T., Komoto, Y., Yoneda, A., Okada, A. (1997)
Mutation analysis of p53 gene in childhood malignant solid tumors
J Pediatr Surg 32(8): 1175-1180
- 47 Li, X., Adam, G., Cui, H., Sandstedt, B., Ohlsson, R., Ekstrom, T.J. (1995)
Expression, promoter usage and parental imprinting status of insulin-like growth factor II (IGF2) in human hepatoblastoma: uncoupling of IGF2 and H19 imprinting
Oncogene 11(2): 221-229
- 48 Lueder, G.T., Smith, M.E. (1994)
Retinoblastoma
Semin Diagn Pathol 11(2): 104-106
- 49 Ma, S.K., Cheung, A.N., Choy, C., Chan, G.C., Ha, S.Y., Ching, L.M., Wan, T.S., Chan, L.C. (2000)
Cytogenetic characterization of childhood hepatoblastoma
Cancer Genet Cytogenet 119(1): 32-36
- 50 Maris, J.M., Kyemba, S.M., Rebbeck, T.R., White, P.S., Sulman, E.P., Jensen, S.J., Allen, C., Biegel, J.A., Brodeur, G.M. (1997)
Molecular genetic analysis of familial neuroblastoma
Eur J Cancer 33(12): 1923-1928
- 51 Maris, J.M., Matthay, K.K. (1999)
Molecular biology of neuroblastoma
J Clin Oncol 17(7): 2264-2279
- 52 Martucciello, G., Favre, A., Takahashi, M., Jasonni, V. (1995)
Immunohistochemical localization of RET protein in Hirschsprung's disease
J Pediatr Surg 30(3): 433-436
- 53 Martucciello, G., Ceccherini, I., Lerone, M., Jasonni, V. (2000)
Pathogenesis of Hirschsprung's disease
J Pediatr Surg 35(7): 1017-1025

- 54 Michaelis, R.C., Skinner, S.A., Deason, R., Skinner, C., Moore, C.L., Phelan, M.C. (1997)
Interstitial deletion of 20p: new candidate region for Hirschsprung disease and autism?
Am J Med Genet 71(3): 298-304
- 55 Minoda, K. (1995)
Genetics of retinoblastoma
Nippon Rinsho 53(11): 2774-2778
- 56 Mitchell, C. (1992)
Multistage carcinogenesis in paediatric and adult cancers
Eur J Cancer 28(1): 296-298
- 57 Mora, J., Cheung, N.K., Kushner, B.H., LaQuaglia, M.P., Kramer, K., Fazzari, M., Heller, G., Chen, L., Gerald, W.L. (2000)
Clinical categories of neuroblastoma are associated with different patterns of loss of heterozygosity on chromosome arm 1p
J Mol Diagn 2(1): 37-46
- 58 Mowat, D.R., Croaker, G.D., Cass, D.T., Kerr, B.A., Chaitow, J., Ades, L.C., Chia, N.L., Wilson, M.J. (1998)
Hirschsprung disease, microcephaly, mental retardation, and characteristic facial features: delineation of a new syndrome and identification of a locus at chromosome 2q22-q23
J Med Genet 35(8): 617-623
- 59 Munier, F., Pescia, G., Jotterand-Bellomo, M., Balmer, A., Gailloud, C., Thonney, F. (1989)
Constitutional karyotype in retinoblastoma. Case report and review of literature
Ophthalmic Paediatr Genet 10(2): 129-150
- 60 Nagata, T., Mugishima, H., Shichino, H., Suzuki, T., Chin, M., Koshinaga, S., Inoue, M., Harada, K. (1999)
Karyotypic analyses of hepatoblastoma. Report of two cases and review of the literature suggesting chromosomal loci responsible for the pathogenesis of this disease
Cancer Genet Cytogenet 114(1): 42-50
- 61 Ninomiya, T., Hayashi, Y., Saijoh, K., Ohta, K., Yoon, S., Nakabayashi, H., Tamaoki, T., Kasuga, M., Itoh, H. (1996)
Expression ratio of hepatocyte nuclear factor-1 to variant hepatocyte nuclear factor-1 in differentiation of hepatocellular carcinoma and hepatoblastoma
J Hepatol 25(4):445-453

- 62 Oda, H., Nakatsuru, Y., Imai, Y., Sugimura, H., Ishikawa, T. (1995)
A mutational hot spot in the p53 gene is associated with
hepatoblastomas
Int J Cancer 60(6): 786-790
- 63 Oda, H., Imai, Y., Nakatsuru, Y., Hata, J., Ishikawa, T. (1996)
Somatic mutations of the APC gene in sporadic hepatoblastomas
Cancer Res 56(14): 3320-3323
- 64 Parada, L.A., Limon, J., Iliszko, M., Czauderna, P., Gisselsson, D.,
Hoglund, M., Kullendorff, C.M., Wiebe, T., Mertens, F., Johansson, B.
(2000)
Cytogenetics of hepatoblastoma: further characterization of 1q
rearrangement by fluorescence in situ hybridization: an international
collaborative study
Med Pediatr Oncol 34(3): 165-170
- 65 Parikh, D.H., Leibl, M., Tam, P.K., Edgar, D. (1995)
Abnormal expression and distribution of nidogen in Hirschsprung`s
disease
J Pediatr Surg 30(12): 1687-1693
- 66 Park, W.S., Oh, R.R., Park, J.Y., Kim, P.J., Shin, M.S., Lee, J.H., Kim,
H.S., Lee, S.H., Kim, S.Y., Park, Y.G., An, W.G., Kim, H.S., Jang, J.J.,
Yoo, N.J., Lee, J.Y. (2001)
Nuclear localization of beta-catenin is an important prognostic factor in
hepatoblastoma
J Pathol 193(4): 483-490
- 67 Pietsch, T., Fonatsch, C., Albrecht, S., Maschek, H., Wolf, H.K., von
Schweinitz, D.(1996)
Characterization of the continuous cell line HepT1 derived from a human
hepatoblastoma
Lab Invest 74(4): 809-818
- 68 Pigny, P., Bauters, C., Wemeau, J.L., Houcke, M.L., Crepin, M., Caron,
P., Giraud, S., Calender, A., Buisine, M.P., Kerckaert, J.P., Porchet, N.
(1999)
A novel 9-base pair duplication in RET exon 8 in familial medullary
thyroid carcinoma
J Clin Endocrinol Metab 84(5): 1700-1704
- 69 Que, T., Puri, P. (1999)
Altered endothelin-3 and endothelin-B receptor mRNA expression in
Hirschsprung`s disease
J Pediatr Surg 34(8): 1257-1260

- 70 Rainier, S., Dobry, C.J., Feinberg, A.P. (1995)
Loss of imprinting in hepatoblastoma
Cancer Res 55(9): 1836-1838
- 71 Reish, O., Gorlin, R.J., Hordinsky, M., Rest, E.B., Burke, B., Berry, S.A. (1997)
Brain anomalies, retardation of mentality and growth, ectodermal dysplasia, skeletal malformations, Hirschsprung disease, ear deformity and deafness, eye hypoplasia, cleft palate, cryptorchidism, and kidney dysplasia/hypoplasia (BRESEK/BRESHECK): new X-linked syndrome?
Am J Med Genet 68(4): 386-390
- 72 Ross, J.A., Radloff, G.A., Davies, S.M. (2000)
H19 and IGF-2 allele-specific expression in hepatoblastoma
Br J Cancer 82(4): 753-756
- 73 Sainati, L., Leszl, A., Stella, M., Montaldi, A., Perilongo, G., Rugge, M., Bolcato, S., Iolascon, A., Basso, G. (1998)
Cytogenetic analysis of hepatoblastoma: hypothesis of cytogenetic evolution in such tumors and results of multicentric study
Cancer Genet Cytogenet 104(1): 39-44
- 74 Sawada, T., Komatsu, H., Shirai, C., Yamamoto, S., Ishiwari, K., Ishida, H., Ohmizono, Y., Matsumura, T. (1995)
[Neuroblastoma]
Gan To Kagaku Ryoho 22(1): 28-36
- 75 Schifter, S., Vendelbo, L., Jensen, O.M., Kaae, S. (1983)
Ewing's tumor following bilateral retinoblastoma. A case report
Cancer 51(9): 1746-1749
- 76 Schwab, M., Corvi, R., Savelyeva, L. (1997)
New genetic loci in neuroblastoma
Klin Pediatr 209(4): 147-149
- 77 Schwab, M. (1999)
Human neuroblastoma: from basic science to clinical debut of cellular oncogenes
Naturwissenschaften 86(2): 71-78
- 78 Seri, M., Yin, L., Barone, V., Bolino, A., Celli, I., Bocciardi, R., Pasini, B., Ceccherini, I., Lerone, M., Kristoffersson, U., Larsson, L.T., Casasa, J.M., Cass, D.T., Abramowicz, M.J., Vanderwinden, J.M., Kravcenkiene, I., Baric, I., Silengo, M., Martucciello, G., Romeo, G. (1997)
Frequency of RET mutations in long- and short-segment Hirschsprung disease
Hum Mutat 9(3): 243-249

- 79 Shimotake, T., Iwai, N., Inoue, K., Kimura, T., Ichikawa, D., Abe, T., Inazawa, J. (1997)
Germline mutation of the RET proto-oncogene in children with total intestinal aganglionosis
J Pediatr Surg 32(3): 498-500
- 80 Sijmons, R.H., Hofstra, R.M., Wijburg, F.A., Inks, T.P., Zwierstra, R.P., Vermey, A., Aronson, D.C., Tan-Sindhunata, G., Brouwers-Smalbraak, G.J., Maas, S.M., Buys, C.H. (1998)
Oncological implications of RET gene mutations in Hirschsprung`s disease
Gut 43(4): 542-547
- 81 Simms, L.A., Reeve, A.E., Smith, P.J. (1995)
Genetic mosaicism at the insulin locus in liver associated with childhood hepatoblastoma
Genes Chromosomes Cancer 138(1): 72-73
- 82 Staiano, A., Santoro, L., De Marco, R., Miele, E., Fiorillo, F., Auricchio, A., Carpentieri, M.L., Celli, J., Auricchio, S (1999)
Autonomic dysfunction in children with Hirschsprung`s disease
Dig Dis Sci 44(5): 960-965
- 83 Steenman, M., Tomlinson, G., Westerveld, A., Mannens, M. (1999)
Comparative genomic hybridization analysis of hepatoblastomas: additional evidence for a genetic link with Wilms tumor and rhabdomyosarcoma
Cytogenet Cell Genet 86(2): 157-161
- 84 Steenman, M.J., Zijlstra, N., Kruitbosch, D.L., Wiesmeijer, C., Larizza, L., Voute, P.A., Westerveld, A., Mannens, M.M. (2000)
Delineation and physical separation of novel translocation breakpoints on chromosome 1p in two genetically closely associated childhood tumors
Cytogenet Cell Genet 88(3-4): 289-295
- 85 Tamaro, P. (1997)
Il tumore di Wilms: progressi ottenuti e prospettive future
[Wilms` tumor: reached progress and future prospects]
Arch Ital Urol Androl 69(4): 227-232
- 86 Tay, J.S. (1995)
Molecular genetics of Wilms` tumour
J Paediatr Child Health 31(5): 379-383
- 87 Teraguchi, M., Nogi, S., Ikemoto, Y., Ogino, H., Kohdera, U., Sakaida, N., Okamura, A., Hamada, Y., Kobayashi, Y. (1997)
Multiple hepatoblastomas associated with trisomy 18 in a 3-year-old girl
Pediatr Hematol Oncol 14(5): 463-467

- 88 Tsuchida, Y., Yokomori, K., Choi, S.H. (1995)
[Hereditary renal tumors: Wilms` tumor- congenital anomalies` syndrome]
Nippon Rinsho 53(11): 2742-2748
- 89 Tsuchida, Y., Hemmi, H., Inoue, A., Obana, K., Yang, H.W., Hayashi, Y.,
Kanda, N., Shimatake, H. (1996)
Genetic clinical markers of human neuroblastoma with special reference
to N-myc oncogene: amplified or not amplified? An overview
Tumour Biol 17(2): 65-74
- 90 Von Horn, H., Tally, M., Hall, K., Eriksson, T., Ekstrom, T.J., Gray, S.G.
(2001)
Expression levels of insulin-like growth factor binding proteins and insulin
receptor isoforms in hepatoblastomas
Cancer Lett 162(2): 253-260
- 91 Wakamatsu, N., Yamada, Y., Yamada, K., Ono, T., Nomura, N.,
Taniguchi, H., Kitoh, H., Mutoh, N., Yamanaka, T., Mushiake, K., Kato,
K., Sonta, S., Nagaya, M (2001)
Mutations in SIP1, encoding Smad interacting protein-1, cause a form of
Hirschsprung disease
Nat Genet 27(4): 369-370
- 92 Weber, R.G., Pietsch, T., von Schweinitz, D., Lichter, P. (2000)
Characterization of genomic alterations in hepatoblastomas. A role for
gains on chromosomes 8q and 20 as predictors of poor outcome
Am J pathol 157(2): 571-578
- 93 Wei, Y., Fabre, M., Branchereau, S., Gauthier, F., Perilongo, G.,
Buendia, M.A. (2000)
Activation of beta-catenin in epithelial and mesenchymal
hepatoblastomas
Oncogene 19(4): 498-504
- 94 Weigel, B.J., Pierpont, M.E., Young, T.L., Mutchler, S.B., Neglia, J.P.
(1998)
Retinoblastoma and Hirschsprung disease in a patient with interstitial
deletion of chromosome 13
Am J Med Genet 77(4): 285-288
- 95 Weinberg, R.A. (1992)
The retinoblastoma gene and gene product
Cancer Surv: 1243-1257
- 96 Wiener, J.S., Coppes, M.J., Ritchey, M.L. (1998)
Current concepts in the biology and management of Wilms tumor
J Urol 159(4): 1316-1325

- 97 Yun, K., Jinno, Y., Sohda, T., Niikawa, N., Ikeda, T. (1998)
Promoter-specific insulin-like growth factor 2 gene imprinting in human fetal liver and hepatoblastoma
J pathol 185(1): 91-98
- 98 Zerbini, M.C., Sredni, S.T., Grier, H., Cristofani, L.M., Latorre, M.R., Hollister, K.A., Alves, V.A., Weinberg, D.S., Perez-Atayde, A.R. (1998)
Primary malignant epithelial tumors of the liver in children: a study of DNA content and oncogene expression
Pediatr Dev Pathol 1(4): 270-280
- 99 Zhan, J., Xiu, Y., Gu, J., Fang, Z., Hu, X.L. (1999)
Expression of RET proto-oncogene and GDNF deficit in Hirschsprung`s disease
J Pediatr Surg 34(11): 1606-1609
- 100 Zogopoulos, G., Albrecht, S., Pietsch, T., Alpert, L., von Schweinitz, D., Lefebvre, Y., Goodyer, C.G. (1996)
Fetal- and tumor-specific regulation of growth hormone receptor messenger RNA expression in human liver
Cancer Res 56(13): 2949-2953

8 ANHANG

8.1 Glossarium verwendeter Fachausdrücke

Allele: Alternative Formen von Genen, die denselben Lokus im Chromosom einnehmen. Die verschiedenen Allele unterscheiden sich voneinander durch ein oder mehrere mutative Veränderungen. Allele sind also Mutanten eines Gens.

Apoptose: Programmierter Zelltod. Reduzierung undifferenzierter oder schon differenzierter Zellmassen.

Autosomen: Alle Chromosomen eines Chromosomensatzes mit Ausnahme der Geschlechtschromosomen.

Beckwith-Wiedemann-Syndrom: Autosomal-dominant vererbtes Fehlbildungssyndrom mit disproportioniertem Minderwuchs, hochgradiger Verkürzung der Wirbelsäule, fassförmigem Thorax, tiefer Lendenlordose und schweren Fehlbildungen der rumpfnahen Epiphysen.

BRESHECK-Syndrom: Die Buchstabenreihe des Wortes entspricht brain, retardation, ectodermal dysplasia, skeletal deformities, Hirschsprung disease, ear/eye anomalies, cleft palate/cryptorchidism, kidney dysplasia/hypoplasia

c-DNA: Komplementäre DNA, die von dem Enzym Reverse Transkriptase von einer RNA als Vorlage synthetisiert wird.

Chromatin: Gesamtes Material, aus dem Chromosomen aufgebaut sind. Es besteht aus DNA, Histonen, Nicht-Histoproteinen und RNA in geringen Mengen. Es wird durch Anfärbung sichtbar gemacht.

Chromosomenmutationen: Jede mikroskopisch sichtbare und dauerhafte Veränderung der Struktur von Chromosomen. Es resultieren Deletionen, Duplikationen, Insertionen, Inversionen und Translokationen.

Crossing-over: Der Austausch genetischer Information zwischen zwei homologen Chromosomen durch Chiasmabildung im Diplotän-Stadium der Meiose I der zu genetischer Rekombination zwischen benachbarten (gekoppelten) Genloci führt.

Deletion: Strukturelle Chromosomenaberration: Verlust eines Teils eines Chromosoms.

Denys-Drash-Syndrom: Syndrom mit männlichem Pseudohermaphroditismus, einer progressiven Glomerulonephropathie und genitalen und urologischen Tumoren.

DNA (Desoxyribonucleinsäure): Das Molekül mit der primären genetischen Information, die als lineare Sequenz von je drei zusammengehörigen Nucleotiden (Triplet) niedergelegt ist.

DNA-Marker: Genetische Polymorphismen, die über Kopplungsanalysen zur molekularbiologischen Diagnose von genetischen Erkrankungen benutzt werden.

Doppelhelix: Struktur zweier gegenläufiger DNA-Moleküle.

Duplikation: Strukturelle Chromosomenaberration: Zweimaliges Auftreten ein und desselben Chromosomensegments im haploiden Chromosomensatz.

Enzym: Protein, das chemische Reaktionen im lebenden Organismus ermöglicht und kontrolliert, wobei es unverändert aus der Reaktion hervorgeht (Biokatalysator).

Erbgang, autosomal-dominant: Vererbungsmodus von dominant wirkenden Genen, die auf den Autosomen lokalisiert sind.

Erbgang, autosomal-rezessiv: Vererbungsmodus von rezessiv wirkenden Genen, die auf den Autosomen lokalisiert sind.

Erbgang, geschlechtsgebunden: Vererbung von Genen, die auf dem X-Chromosom lokalisiert sind. (Das Y-Chromosom kann vernachlässigt werden, da dort bisher außer SRY sehr wenige Gene bekannt sind). Die Vererbung wird durch das chromosomale Geschlecht und die Art der Genwirkung (dominant oder rezessiv) definiert.

Erbgang, multifaktoriell: Genetische Determinierung eines Phänotyps nicht durch ein einziges Gen, sondern durch das Zusammenwirken vieler Gene und Umweltfaktoren.

Erbgang, X-chromosomal-dominant: Vererbungsmodus von dominant wirkenden, auf dem X-Chromosom gelegenen, Genen.

Erbgang, X-chromosomal-rezessiv: Vererbungsmodus von rezessiv wirkenden, auf dem X-Chromosom gelegenen, Genen.

Euchromatin: Chromatin des Interphasekerns, das in entspiralisierter Form vorliegt und als aktives Genmaterial angesehen wird.

Eukaryonten: Alle Organismen mit Ausnahme der Bakterien und Blaualgen.

Ewing-Sarkom: Ein vom Knochenmark ausgehendes Sarkom, das häufig im Bereich der Diaphysen von Femur und Tibia vorkommt.

Exon: Kodierender Teil der DNA bzw. m-RNA.

Expressivität: Art der Ausprägung eines Gens.

Familiäre adenomatöse Polyposis (FAP): Autosomal-dominant vererbtes Krankheitsbild, bei dem multiple neoplastische adenomatöse Polypen im Dickdarm auftreten.

Floureszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH): In situ-Hybridisierung mit Fluorfarbstoffen.

FMTC (familial medullary thyroid carcinoma): Ein familiär auftretendes medulläres Schilddrüsenkarzinom.

Frame-shift-Mutation: Mutation, die zu einem Leserasterwechsel führt durch Deletion oder Insertion eines oder zweier Nukleotide.

Gen: Ein Gen ist ein DNA-Abschnitt, der für ein funktionelles Produkt kodiert.

Genetische Genkarte: Genkartierung mit Hilfe von Familienuntersuchungen.

Genkopplung: Gene auf dem gleichen Chromosom in enger Lagebeziehung, die häufig gemeinsam vererbt werden.

Genlocus: Die Position eines Gens auf einem Chromosom oder innerhalb einer Kopplungsgruppe

Genmutation: Mutation, die im submikroskopischen Bereich liegt. In der engeren Begriffsfassung wird unter Genmutation eine mutative Veränderung innerhalb der Grenzen eines einzigen Gens verstanden, in der engsten Begriffsfassung der Austausch einer einzigen Base. Als Ergebnis von solchen Genmutationen entstehen alternative Formen von Genen, die sog. Allele.

Genomic Imprinting: Unterschiedliche Expression der Gene, je nachdem, ob sie vom Vater oder von der Mutter stammen. Dieser geschlechtspezifische Einfluss der Gene ist unabhängig davon, ob sie auf den Autosomen oder auf den Geschlechtschromosomen lokalisiert sind (nicht geschlechtsgebunden). Genomic Imprinting beeinflusst die embryonale Entwicklung und die Expression der genetischen Krankheiten.

Genommutaionen: Führen im Gegensatz zur Haploidie zu Hyper-, Hypo- und Polyploidien.

Goldberg-Shprintzen-Syndrom: Kombination einer Aplasie oder Hypoplasie des Thymus und der Parathyroidea, eines zellulären Immundefektes, einer Hypothyreose, eines Herzfehlers, einer Lippen-Gaumen-Uvula-Spalte, eines dysmorphen Gesichtes und einer mentalen Retardierung.

Gonosomen: Geschlechtschromosomen

Hepatoblastom: Selten auftretender maligner embryonaler Misch tumor im Lebergewebe, bestehend aus unreifem Lebergewebe, manchmal Osteoid und Knochen, der im Kleinkindesalter vorkommt.

Heterochromatin: Chromatin des Interphasekerns, das in spiralierter Form vorliegt und als inaktives Genmaterial betrachtet wird.

Heterogene nukleäre RNA (hn-RNA): Kopie der DNA, die genau die Sequenz des Genoms wiedergibt und die zur m-RNA zurechtgeschnitten wird.

Heterozygotie: Bei eukaryonten (diploiden) Organismen das Vorhandensein von verschiedenen Allelen an sich entsprechenden genetischen Loci in homologen Chromosomensegmenten.

Histone: Heterogene Gruppe von Proteinen, reich an basischen Aminosäuren. Sie werden im Komplex mit chromosomaler DNA gefunden.

Homozygotie: Bei eukaryonten (diploiden) Organismen das Vorhandensein von identischen Allelen an sich entsprechenden Loci in homologen Chromosomensegmenten.

Horner-Syndrom: Symptomenkomplex aus Miosis, Ptosis und Enophthalmus durch Läsion des Sympathikus.

Hyperploidie: Eines oder mehrere zusätzliche Chromosomen oder Chromosomensegmente in Zellen oder Individuen.

Hypoploidie: Das Ergebnis des Verlustes von einem oder mehreren Chromosomen oder Chromosomensegmenten in Zellen oder Individuen.

In-situ-Hybridisierung: Methode zur Lokalisation von Single-copy-Sequenzen auf der DNA durch Hybridisation von radioaktiver RNA oder DNA an Metaphasechromosomen.

Intron: Nichtkodierender Teil der DNA bzw. hn-RNA, der durch splicing beseitigt wird.

Inversion: Strukturelle Chromosomenaberration: Drehung eines Chromosomenstückes innerhalb eines Chromosoms um 180 Grad.

Karyogramm: Summe aller Chromosomen einer Zelle nach morphologischen Kriterien geordnet.

Karyotyp: Chromosomensatz eines Individuums, definiert sowohl durch Zahl als auch durch Morphologie der Chromosomen, wie sie in der mitotischen Metaphase mikroskopisch sichtbar sind.

Klon-Conting: Zusammenhängende Region im Genom aus einer Reihe überlappender DNA-Klone bestehend.

Klonierung: Vermehrung von DNA in einem Vektor.

Kopplung: Gene oder andere DNA-Sequenzen, die aufgrund räumlicher Nähe auf einem Chromosom gemeinsam vererbt werden.

Kopplungsanalyse: Studie über Genkopplung, die zu Risikoberechnung für Erbkrankheiten benutzt wird.

Linker-DNA: Synthetische Nukleotide einer vorgegebenen Sequenz zum Einbau von Fremd-DNA in einen Plasmid-Vektor. Auch Verbindungen zwischen Nukleosomen im Eukaryontenchromosom.

LOH=loss of heterozygosity: Verlust der Heterogenität

LOI=loss of imprinting: Verlust der Fähigkeit, ein Gen chemisch zu verändern.

Meiose: Die spezielle Teilung der Zellkerne in Keimzellen, die zur Reduktion des Chromosomensatzes vom diploiden zum haploiden Zustand führt.

MEN (multiple endokrine Neoplasien): Beim MEN 1 (Werner-Syndrom) besteht ein Hypophysenadenom, ein primärer Hyperparathyreoidismus und ein Pankreastumor, beim MEN 2a (Sipple-Syndrom) haben die Patienten ein medulläres Schilddrüsenkarzinom und ein Phäochromozytom und Hyperparathyreoidismus (bei 75% der Fälle) und beim MEN 2b zusätzlich noch eine Neuroangliomatose und marfanoider Habitus.

MHC (Major Histocompatibility Complex): Haupthistokompatibilitätskomplex auf dem kurzen Arm von Chromosom 6, der die MHC-Antigene kodiert. Der genetische Komplex enthält beim Menschen ungefähr 2.000 Gene.

Missense-Mutation: Punktmutation, die durch Veränderungen einer Aminosäure zu einem veränderten Polypeptid führt

Mitose: Kernteilung bei der Teilung somatischer Zellen, bestehend aus Prophase, Metaphase, Anaphase und Telophase.

Monosomie: Fehlen von einem oder mehreren einzelnen Chromosomen in einem im übrigen diploiden Chromosomensatz.

Morbus Hirschsprung: Kongenitales Megacolon, vor allem bei Jungen vorkommende umschriebene Dickdarterweiterung mit schweren Passagestörungen, durch Aganglionose eines kaudal des Megacolons liegenden Darmabschnittes.

Multiple Allelie: Existieren mehr als zwei Allele eines bestimmten Gens, so spricht man von multiplen Allelen, bzw. multipler Allelie.

Mutagene: Mutationserzeugende Stoffe; dazu gehören bestimmte Chemikalien (auch aus der Gruppe der Pharmaka) und ionisierende Strahlen.

Mutation: Jede erkennbare erbliche Veränderung im genetischen Material, die auf die Tochterzellen vererbt wird.

Mutatorgene: Klasse von Genen, deren Mutation zu einem Tumor führt.

Neumutation: Mutation, die bei einem Träger erstmals auftritt und eine Generation vorher noch nicht vorhanden war.

Neuroblastom: Aus Neuroblasten hervorgehender maligner Tumor.

Neurofibromatosis generalisata (Morbus v. Recklingshausen): Eine autosomal-dominante Phakomatose mit multiplen Neurofibromen der

Hautnerven auf dem gesamten Körper, Cafe'-au-lait-Flecken, multiple Nävi, Knochenanomalien, Skoliose und Veränderungen des Augenhintergrundes.

Nucleosom: Untereinheit des Chromatins.

Nucleosomenscore: Oktaeder aus den Histon-Dimeren H2A, H2B, H3 und H4 mit DNA-Faden in 1,8 Linkswindungen umwickelt.

Onkogen: Gen, das an der Kontrolle der Zellproliferation beteiligt ist. Durch Überexpression kann aus einer normalen Zelle eine Tumorzelle werden.

Opsoklonus: Kurze, schnelle Augenbewegungen in unterschiedliche Richtungen.

PCR-Methode: Polymerasekettenreaktion. Methode zur schnellen, gezielten Vervielfältigung bestimmter DNA-Sequenzen.

Physikalische Genkarte: Lokalisation von DNA-Sequenzen auf „physikalische“ Abschnitte von Chromosomen.

Polyploidie: Der Besitz von drei (triploid), vier (tetraploid), fünf (pentaploid) oder mehr kompletten Chromosomensätzen anstelle von zwei (wie bei Diplonten) in einer Zelle oder in jeder Zelle eines Individuums.

Polysomen: Multiribosomale Struktur, repräsentiert durch eine lineare Anordnung von Ribosomen, zusammengehalten durch m-RNA.

Primer: Ein DNA- oder RNA-Oligonukleotid, das nach Hybridisierung an eine invers komplementäre DNA ein freies 3'-OH Ende für die Kettenverlängerung durch eine DNA-Polymerase bindet.

Promotor: RNA-Polymerase-Erkennungsort; Sequenz auf der DNA, an der die Transkription startet.

Protoonkogen: Gen, das durch Mutation falsch exprimiert und so zu einem Onkogen wird.

Punktmutation: Mutation, die nur ein einziges Basenpaar betrifft.

Regulatorgene: Gen, dessen Funktion es ist, die Aktivität der Strukturgene eines Operons zu steuern. Die Steuerung erfolgt über sog. Repressoren.

Restriktionsendonukleasen=Restriktionsenzym: Spezifische Nuklease, die spezifische DNA-Sequenzen erkennt und schneidet.

Retinoblastom: Autosomal-dominant erbliche Erkrankung, sehr häufig Neumutationen. Maligner Augentumor aus embryonalen Netzhautelementen, im Säuglings- oder Kleinkindalter auftretend, häufig Knochenmetastasen. Ein Gen, dessen Mutation zum Retinoblastom führt, ist auf Chromosom 13 in der Bande 13q14 lokalisiert. Während bei doppelseitig befallenen Patienten Neumutationen auf solche in den Keimzellen der Eltern zurückgehen, gehen einseitig sporadische Fälle auf somatische Mutationen zurück.

Rhabdomyosarkom: Ein seltenes, von der quergestreiften Muskulatur ausgehendes Weichteilsarkom.

RNA (Ribonucleinsäure): Ein Polynucleotid ähnlicher Struktur wie DNA, wobei Ribose statt Desoxyribose den Zuckeranteil stellt.

Scaffold attachment regions (SARs): Gerüstkopplungsbereiche, wahrscheinlich die Bereiche der DNA, die an zentrale Gerüstproteine binden.

Sha-Waardenburg-Syndrom: Waardenburg Typ 2 und Hirschsprung-Phänotyp

Single-copy DNA: Einzelkopie-Elemente der DNA mit Genen.

Spacer-DNA: Repetitive DNA zwischen Genen.

Splicing: Herausschneiden nicht-kodierender Sequenzen aus der hn-RNA.

Strukturgene: Gene für die Produktion von Enzymen und anderen Proteinen.

Syntänie: Zwei genetische Loci, die sich auf einem Chromosom befinden, aber normalerweise nicht als Kopplungsgruppe vererbt werden.

Terminator: DNA-Polymerase-Erkennungsort; Sequenz auf der DNA, an der die Transkription endet.

Transkription: Kopierung der DNA-Nukleotidsequenz und somit der DNA-Information auf der hn-RNA und deren Processing zur m-RNA.

Translation: Umsetzung der m-RNA-Information in Protein.

Translokation: Strukturelle Chromosomenveränderung, charakterisiert durch eine Änderung in der Position von Chromosomensegmenten innerhalb des Karyotyps.

Trisomie: Eines oder mehrere zusätzliche Chromosomen neben einem normalen Homologenpaar. Das Extra-Chromosom ist immer homolog zu einem der beiden normalen vorhandenen homologen Chromosomen. Eine Trisomie kann in Keimzellen durch meiotische Non-disjunction oder in somatischen Zellen durch somatische Non-disjunction entstehen.

Tumorsuppressorgen: Gen, zu dessen Aufgabe die Unterdrückung der Tumorentstehung zählt.

Waardenburg-Syndrom: Ein autosomal-dominant vererbtes Krankheitsbild mit Innenohrschwerhörigkeit, Ektodermaldysplasie, Piebalismus, okuläre Anomalien und weitere Dysplasien.

WAGR-Syndrom: Kurzbezeichnung für Wilms Tumor, Aniridie, Gonadoblastom und Retardierung.

Wilms Tumor=Nephroblastom: Embryonales Adenomyosarkom; meist einseitig auftretender, zunächst verdrängend wachsender, maligner Misch tumor der kindlichen Niere, bestehend aus epitheloiden und mesenchymalen Anteilen; Metastasierung häufig hämatogen in Lunge, Leber, Gehirn und regionale Lymphknoten. Der Tumor kommt gehäuft zwischen dem 3. und 5. Lebensjahr vor.

Wnt-Signalweg: Der Wnt-Signalweg reguliert verschiedene Prozesse während der Embryonalentwicklung. Er kann aber auch zur Tumorentstehung führen. Wnts bilden eine Familie von sezernierten Glykoproteinen, die an „seven-transmembrane-span“-Rezeptoren der Frizzled-Familie binden. Intrazellulär blockiert die Wnt-Signalkaskade den Abbau von β -Catenin in Proteasomen und bewirkt dadurch die Anreicherung von β -Catenin im Zytoplasma. Das β -Catenin wandert in den Zellkern und verändert die Expression von Wnt-Zielgenen, indem es mit Transkriptionsfaktoren der LEF-1/TCF-Familie interagiert.

Das Conductin, eine Gerüstkomponente, induziert den Abbau von β -Catenin in Proteasomen und inhibiert damit den Wnt-Weg. Conductin bindet gleichzeitig an β -Catenin, die Serin/Threonin-Kinase, GSK3 β und an das Tumorsuppressorgen APC (adenomatöse Polyposis Coli). In kolorektalen Karzinomen führen Mutationen von APC selber zur Stabilisierung von β -Catenin und lösen dadurch ein konstitutives Signal im Zellkern aus. Mutationen von β -Catenin-Genen, die zu dessen Stabilisierung führen, finden sich ebenfalls in kolorektalen Tumoren und in einer Vielzahl anderer Tumorarten, so dass die aberrante Aktivierung des Wnt-Signalwegs einen Hauptmechanismus der onkogenen Transformation in verschiedenen Tumorarten darstellt.

Zinkfinger: Polypeptidmotiv, stabilisiert durch Bindung eines Zinkatoms, das Proteinen ermöglicht, gezielt bestimmte DNA-Sequenzen zu binden. Sie befinden sich häufig in Transkriptionsfaktoren.

8.2 Abkürzungsverzeichnis

Add	zusätzliches Material unbekannter Herkunft
APC	adenomatöse Polyposis Coli
BRESHECK	brain, retardation, ectodermal dysplasia, skeletal deformities, Hirschsprung, ear/eye anomalies, cleft palate/cryptorchidism, kidney dysplasia/hypoplasia
BWS	Beckwith-Wiedemann-Syndrom
CDKN	cyclin-dependent kinase inhibitor
del	Deletion
der	derivative chromosome
Dezimalpunkt	kennzeichnet Unterbanden
dir	direkt
DNA	Desoxyribonucleinsäure
ECE1	endothelin converting enzyme
EDN3	endothelin3
EDNRB	endothelin B receptor
FAP	Familiäre Adenomatöse Polyposis
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
FMTC	familial medullary thyroid carcinoma

Fragezeichen (?)	fragliche Identifizierung eines Chromsoms oder Chromosomenstruktur
GDNF	glial-cellline-derived neurotropic factor
GST	Glutathion S-transferase
HCC	hepatocelluläres Carcinom
hGHR	human growth hormone receptor
HNF-1	hepatocyte nuclear factor-1
ICAM-1	intercellular adhesion molecule-1
IGF-2	insulin-like growth factor-2
IGFBP-2	insulin-like growth factor binding protein-2
ins	Insertion
Klammern ()	umgeben in der Struktur veränderte Chromosomen und Brüche
LOH	loss of heterozygosity
LOI	loss of imprinting
MEN	multiple endokrine Neoplasie
MHC	major histocompatibility complex
Minus (-)	Verlust
p	kurzer Arm des Chromosoms
PCR	Polymerase chain reaction
Plus(+)	Gewinn
PMETL	primary malignant epithelial tumors of the liver
q	langer Arm des Chromosoms
RET	rearranged during transfection

RNA	Ribonucleinsäure
SARs	scaffold attachment regions
SIP1	smad interacting protein 1
Strichpunkt	trennt veränderte Chromosomen und Brüche in strukturellen Neuarrangements, die mehr als ein Chromosom betreffen
t	Translokation
ter	terminal (Ende eines Chromosoms)
TOPOIIa	Topoisomerase IIa
VHL	Von Hippel Lindau
WAGR	Wilms Tumor, Aniridie, Gonadoblastom, Retardierung

8.3 Genloci für verschiedene Krankheiten

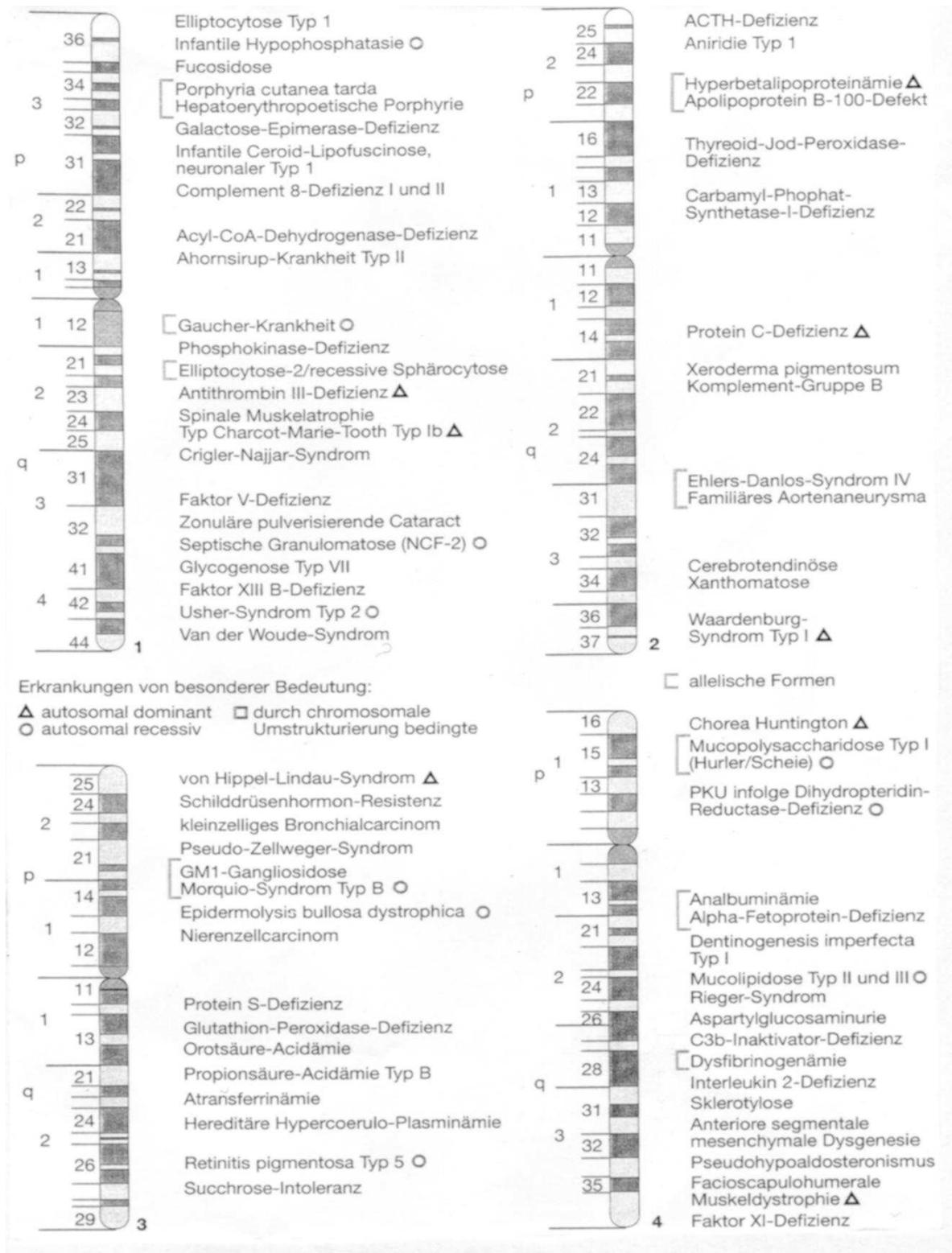


Abbildung 4a Genloci für Krankheiten (Chromosom 1-4)

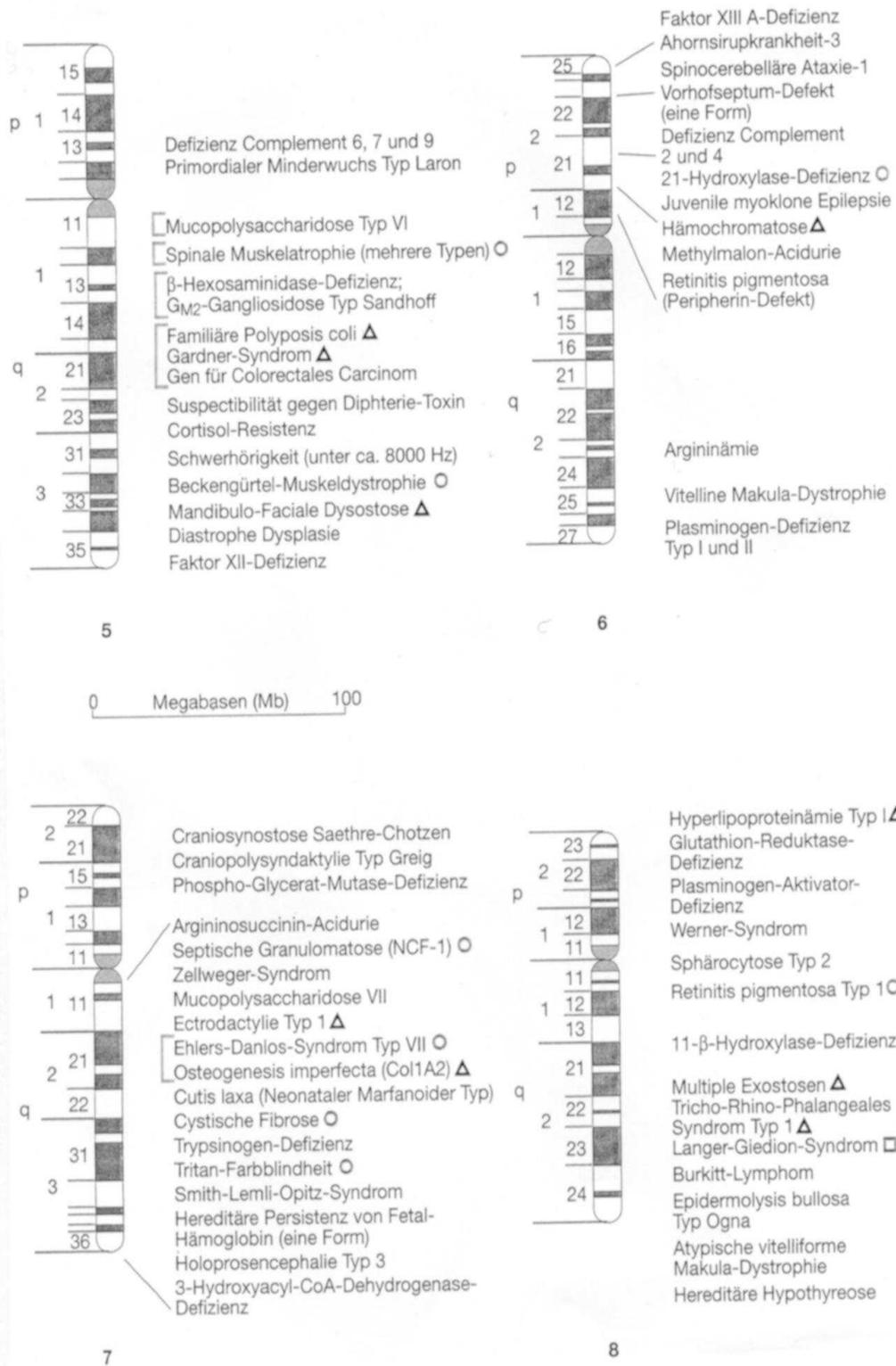


Abbildung 4b Genloci für Krankheiten (Chromosom 5-8)

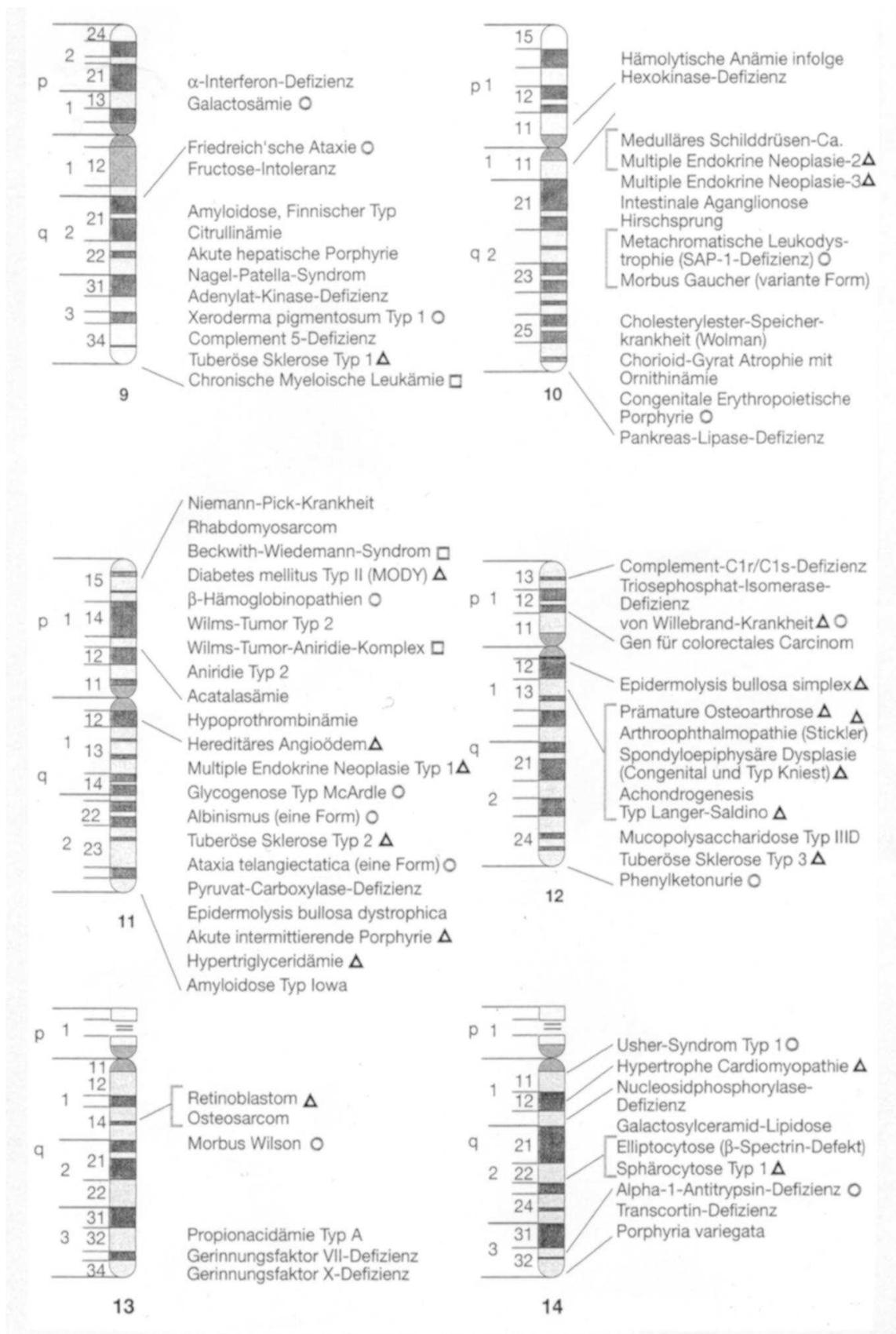


Abbildung 4c Genloci für Krankheiten (Chromosom 9-14)

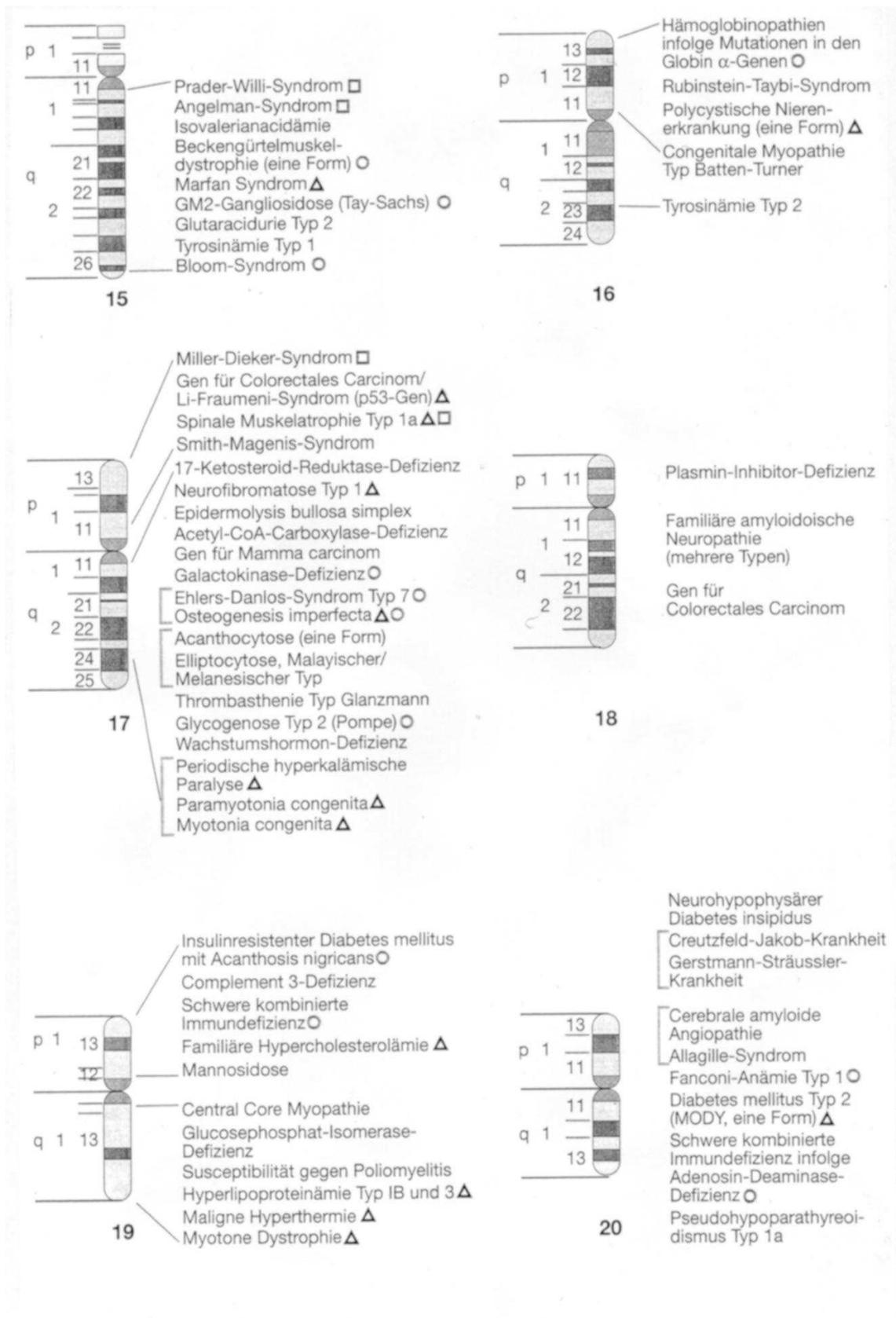


Abbildung 4d Genloci für Krankheiten (Chromosom 15-20)

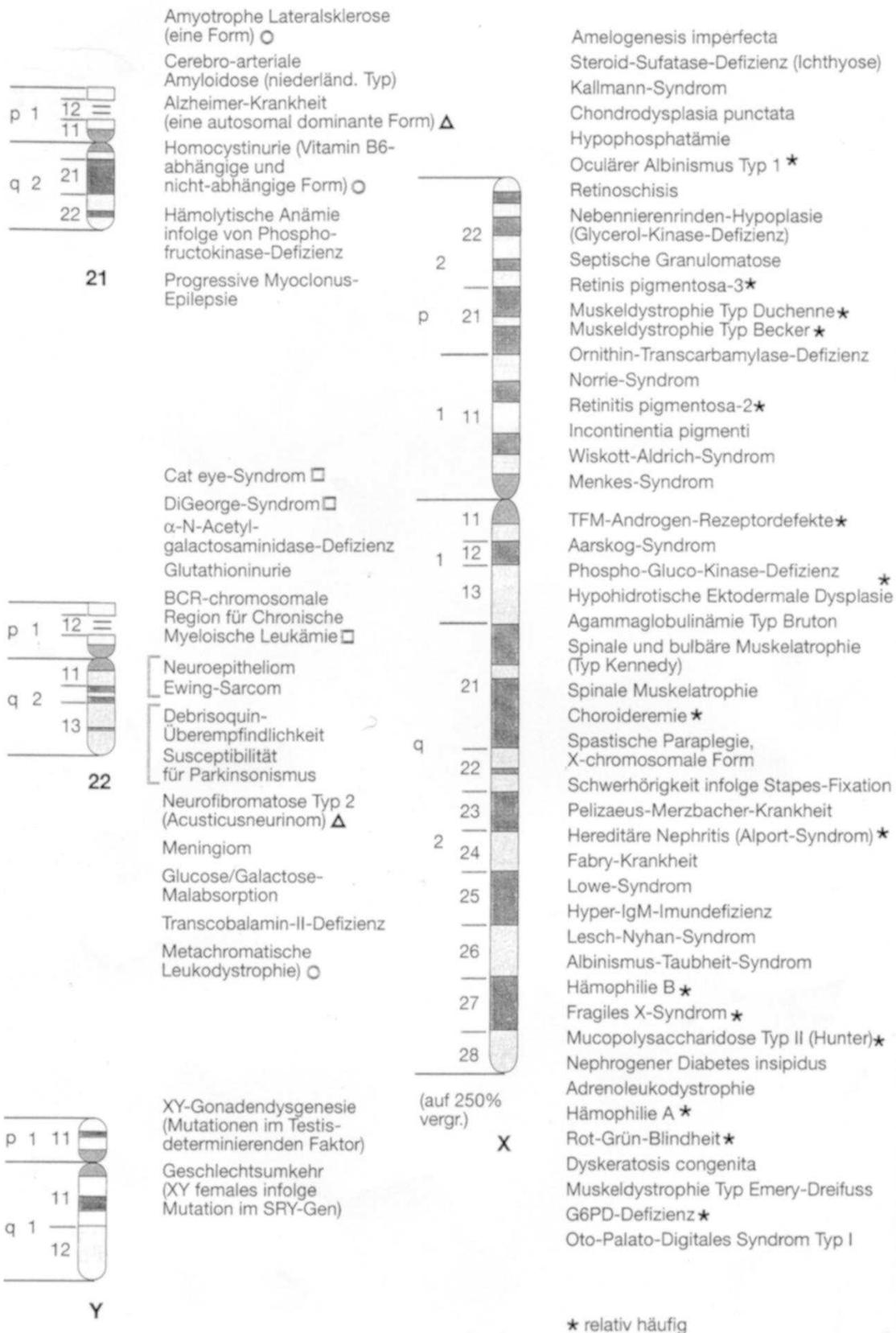


Abbildung 4e Genloci für Krankheiten (Chromosom 21, 22, X, Y)

8.4 Danksagungen

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Paul Schweizer für die Überlassung dieses Themas und die stetige, äußerst geduldige Betreuung während der Durchführung dieser Dissertation.

Mein größter Dank gilt meiner Familie, die mich in wirklich jeder Hinsicht unterstützt, nie die Geduld verloren und mir dieses Studium und somit meinen Traum ermöglicht hat.

Bedanken möchte ich mich bei Jens Kloeren und Harald Bauer, die mir bei computertechnischen Dingen mit Rat und Tat zur Seite gestanden sind.

An dieser Stelle möchte ich auch Herrn Clemens für seine Anregungen beim Verfassen und bei der Fehlerkorrektur dieser Arbeit danken.

Danken möchte ich schließlich noch all meinen Freunden, die mich während dieser Zeit sehr unterstützt haben.

8.5 Lebenslauf

Stefanie Alexandra Bauer

geboren am 21.09.1976 in Tübingen

Eltern Frank Bauer, Zahntechniker
Evelyne Bauer, geb. Hämmerle, Zahnmedizinische Assistentin

Geschwister Benjamin Philipp Bauer, Auszubildender

Schulbildung

1983-1987 Grundschule Unterjesingen in Tübingen-
Unterjesingen
1987-1996 Wildermuth-Gymnasium in Tübingen
06/96 Abitur

Freiwilliges Soziales Jahr

09/96-09/97 Freiwilliges Soziales Jahr im Universitätsklinikum
Tübingen, Abteilung für Allgemeinchirurgie

Berufsausbildung

10 97/98 Beginn des Medizinstudiums an der Eberhard-Karls-
Universität Tübingen
03/00 Ärztliche Vorprüfung in Tübingen
04/01 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in Tübingen
09/03 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in Tübingen
11/04 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in Tübingen