

Diplo-Ph¹-Chromosom bei der myeloischen Leukämie

Von

K. E. HAMPEL

Aus der Hämatologischen Abteilung (Leiter: Priv.-Doz. Dr. H. GERHARTZ) der I. Medizinischen Klinik der Freien Universität Berlin
(Direktor: Prof. Dr. H. Frhr. v. KRESS)

Kürzlich konnten wir über die gehäuft auftretende Endoreduplikation bei einer vorbehandelten chronischen myeloischen Leukämie im Myeloblastenschub berichten⁴, nachdem BOTTURA² unlängst eine ähnliche Beobachtung bei der akuten Leukose mitgeteilt hat. Bei der Endoreduplikation handelt es sich um eine maskierte Endomitose¹¹, bei der Diplochromosomen in der Metaphase nachweisbar werden⁸. Die zusätzliche Reduplikation findet in der Ruhephase statt, wobei in der frühen und späten Metaphase ein tetraploider Chromosomensatz von jeweils koorientierten Doppelchromosomen sichtbar wird. Dieses Phänomen kann außer bei vereinzelt Leukämien auch regelmäßig nach Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Leukocyten in vitro (OHNUKI¹⁰ nach 400 r, BELL¹ nach 259 r) beobachtet werden. Auch bei experimentellen Tumoren ist die Endoreduplikation von LEVAN⁸ und HAUSCHKA⁷ beschrieben worden. Äußerst selten aber findet man endoreduplizierte Metaphasen auch bei

Kurzzeitkulturen gesunder Spender. Bei der Knochenmarkdirektmethode ohne vorherige Zellkultur konnte dieses Phänomen hingegen nicht beobachtet werden.

Das Auftreten von zwei oder mehr isolierten Ph¹-Chromosomen bei polyploiden Leukämiezellen ist nicht ungewöhnlich¹³. Demgegenüber soll jedoch über das Vorkommen zweier endoreduplizierter Philadelphia-Chromosomen berichtet werden, die als Diplochromosomen vorliegen.

Methodik

Die Kurzzeitkulturen peripherer Leukocyten wurden nach der von MOORHEAD⁹ angegebenen und von uns geringfügig modifizierten Methode angesetzt und bearbeitet. Die Brutungsdauer betrug 48 bzw. 72 Std. Vier bzw. 6 Std vor Bearbeitung setzten wir den Kulturen 0,004 mg/ml Desacetyl-methylcolchicin (Colcemid) zu. Die Ausbreitung der Metaphasen wurde mittels Lufttrockentechnik nach ROTHFELS¹² erzielt. Die mit Orcein gefärbten und auswertbaren Zellen wurden photographisch festgehalten.

Kasuistik

Bei einem 38 Jahre alt gewordenen Patienten wurde 1957 die Diagnose einer chronischen myeloischen Leukämie gestellt. Im Jahre 1954 erhielt er insgesamt 1350 r Röntgenbestrahlung der Lumbosacralregion wegen Osteochondrose und 1958—1960

und Chromosomenbrüche, wobei insbesondere die distalen Segmente der langen Arme betroffen waren⁴. Das Ph¹-Chromosom war bei 17% der Zellen nachweisbar. Die komplexen, vermutlich strahleninduzierten Chromosomenaberrationen wurden bereits an anderer Stelle⁴ ausführlich erörtert. Bei sieben Metaphasen

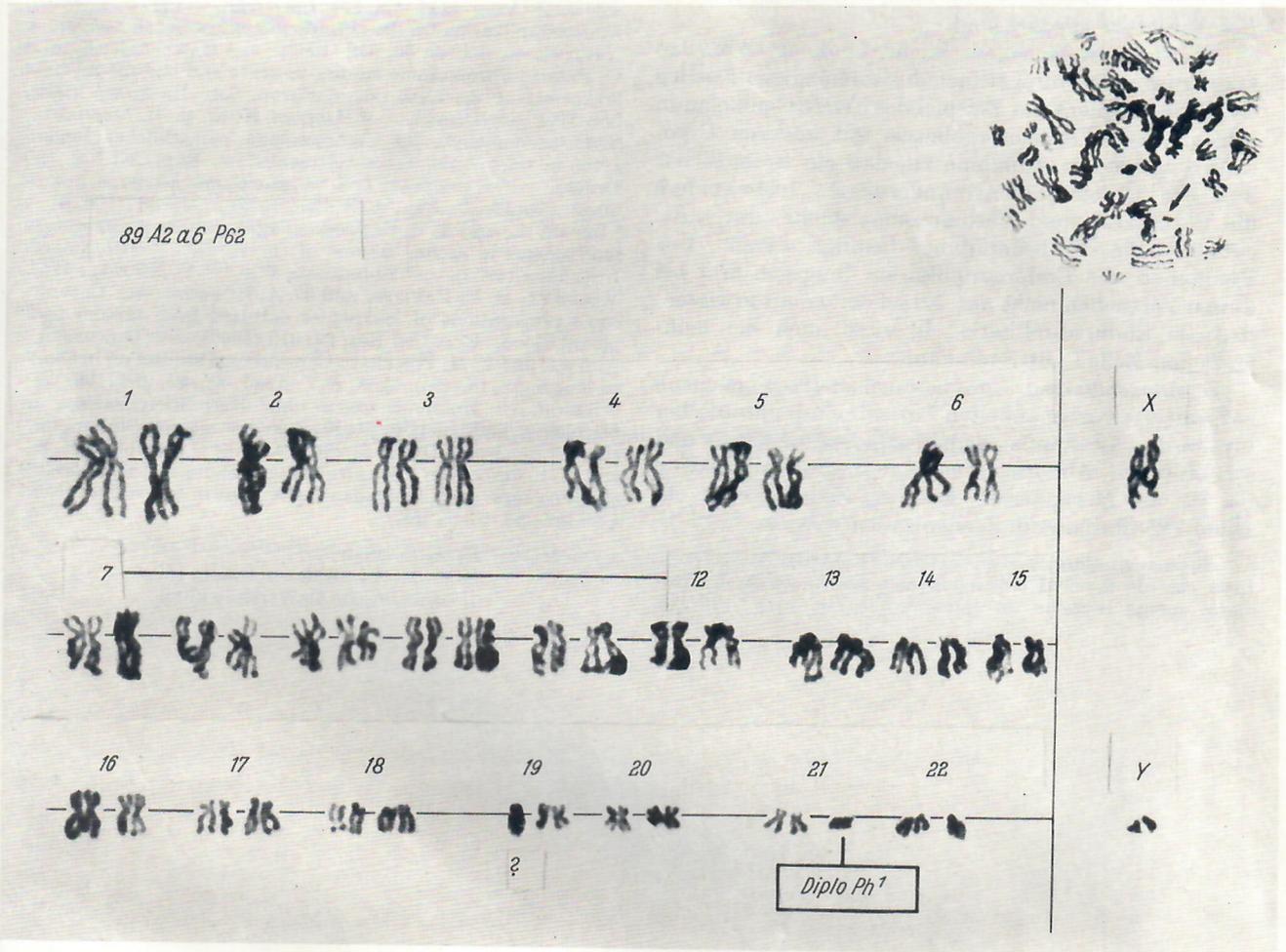


Abb. 1

insgesamt 3025 r auf Milz und verschiedene Knochenmarkabschnitte. Von Juni 1961 bis Januar 1963 wurde er cytostatisch mit insgesamt 42 g Mannitmyleran, 4,87 g Azetepa, 95 mg Vincalokoblastin und 598 mg Myleran behandelt. In den 4 bzw. 6 Monaten vor dem Ansatz der Leukocytenkultur (67 und 89) erhielt er lediglich 8 mg Methylprednisolon pro die. Beim Start der Leukocytenkultur 89 bestanden eine hypochrome Anämie von 9,4 g-% Hb, 3 Mill. Ery., 29 Hb_E, eine Leukocytose von 18700 mit beginnender Entdifferenzierung im Differentialblutbild sowie eine Thrombopenie von 4000. Im Oktober 1963 trat der Tod im Myeloblastenschub ein.

Ergebnisse

Die numerische Chromosomenanalyse (Tabelle) ergab eine erhebliche Streuung um den Modalwert: Hypo- und Hyperdiploidie, Hypotetraploidie und Tetraploidie. Die Endoreduplikation war bei ca. 8% der Metaphasen nachweisbar. Die strukturelle Analyse zeigte bei 45% der ausgewerteten Metaphasen chromosomale Veränderungen, davon zahlreiche Chromatid-

Tabelle. Numerische und strukturelle Chromosomenanalyse bei einer chronischen myeloischen Leukämie

<44	44	45	46	47	48	52	60	66	78	84	86	92	Endoreduplikation	total
5	3	9	60	6	2	1	1	1	1	1	1	3	8	102
		Chromatidbrüche		Chromosomenbrüche										
		kurzer Arm	langer Arm	kurzer Arm	langer Arm									
Proximal			2											3
Intermediär		1	3										2	2
Distal			4											10
Mit breiter achromat. Lücke			2											
Azentrische Fragmente														11
Isolierte Fragmente											7			
Ringchromosom														1
Ph ¹ -Chromosom	dizentrische	komplexe Chromosomenaberrationen												
17	5	4												

Metaphasen, gesamte mit Chromosomenaberrationen 102
45=45%

mit Endoreduplikation konnten die kleinen akrozentrischen Chromosomen (Nr. 21—22 und Y) beurteilt werden: In zwei Zellen war ein Diplo-minute-Chromosom nachweisbar, welches als Diplo-Ph¹-Chromosom anzusprechen ist. Die Abb. 1 zeigt eine Zelle mit Diplo-Ph¹-Chromosom bei Endoreduplikation, wobei die Diplochrosomen entsprechend der Denver-Nomenklatur³ gepaart sind.

Bei Chromosomen menschlicher Leukocyten in vitro konnten wir neuerdings einen dosisabhängigen Anstieg der Bruchfrequenz am Beispiel des Triäthylmelamin zeigen⁶. Die Versuchsergebnisse mit anderen Cytostatica lassen die Annahme zu, daß ein wesentlicher Teil der Chromosomenveränderungen, insbesondere die Chromatid- und Chromosomenbrüche, durch die cytostatische Vorbehandlung bedingt waren. Das Phänomen der Endoreduplikation hingegen trat bei diesen Versuchen nicht auf. Es scheint somit erwiesen, daß die Endoreduplikation in vitro auch bei leukämischen Zellen auftreten kann.

Zusammenfassung. Chromosomenanalysen bei einem cytostatisch vorbehandelten Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie ergaben neben numerischen und strukturellen Abnormitäten eine Endoreduplikation bei 8% der Metaphasen. Bei zwei Zellen konnte ein Diplo-Ph¹-Chromosom nachgewiesen werden.

Summary. Chromosome analyses in a patient suffering from chronic myeloid leukaemia and pretreated with cytostatic agents revealed an endoreduplication in 8% of the

metaphases and numerical and structural abnormalities. In two cells a diplo-Ph¹-chromosome could be detected.

Literatur. ¹ BELL, A. G., and D. G. BAKER: Irradiation-induced chromosome aberrations in normal human leukocytes in culture. *Canad. J. Genet. Cytol.* **4**, 341 (1962). — ² BOTTURA, C., and I. FERRARI: Endoreduplication in acute leukemia. *Blood* **21**, 207 (1963). — ³ Denver Study Group: A proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes. *J. Amer. med. Ass.* **174**, 159 (1959). — ⁴ HAMPEL, K. E.: Endoreduplikation bei der chronischen myeloischen Leukämie. *Naturwissenschaften* **50**, 619 (1963). — ⁵ HAMPEL, K. E., and G. PALME: Chromosome studies in acute and chronic myeloid leukaemia. *Proc. IXth Congr. Europ. Soc. Haematol. Lissabon 1963* (im Druck). — ⁶ HAMPEL, K. E., u. H. GERHARTZ: Strukturanomalien der Chromosomen menschlicher Leukocyten in vitro durch Triäthylmelamin. *Exp. Cell Res.* (im Druck). — ⁷ HAUSCHKA, T. S.: Chromosome patterns in primary neoplasia. *Exp. Cell Res., Suppl.* **9**, 86 (1963). — ⁸ LEVAN, A., and T. S. HAUSCHKA: Endomitotic reduplication mechanisms in ascites tumors of the mouse. *J. nat. Cancer Inst.* **14**, 1 (1953). — ⁹ MOORHEAD, P. S., P. C. NOWELL, W. J. MELLMAN, D. M. BATTIPS, and D. A. HUNGERFORD: Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell Res.* **20**, 613 (1960). — ¹⁰ OHNOKI, Y., A. AWA, and C. M. POMERAT: Chromosome studies on irradiated leukocytes in vitro. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **95**, 882 (1961). — ¹¹ RESCH, A.: Untersuchungen über Kerndifferenzierung in peripheren Zellschichten der Sproßachse einiger Blütenpflanzen. *Chromosoma (Berl.)* **5**, 296 (1952). — ¹² ROTHFELS, K. H., and L. SIMINOVITCH: An air-drying technique for flattening chromosomes in mammalian cells grown in vitro. *Stain Technol.* **33**, 73 (1958).

Anschrift: Dr. K. E. HAMPEL,
1 Berlin 19, Spandauer Damm 130,
I. Medizinische Universitätsklinik