

Verena Elisabeth Deckwart
Dr. med.

Entwicklung einer Duplex - RT - PCR zur Analyse von Cytokeratin - 19 und Survivin im Blut von Patientinnen mit Mammakarzinom: Sensitivität und Spezifität im Vergleich mit den Standardmarkern HER - 2, MUC - 1 und EpCAM

Geboren am 17.10.1978 in Hildesheim
Staatsexamen am 03.05.2007 an der Ruprech-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Frauenheilkunde
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. N. Fersis

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Nachweissystem für zirkulierende Mammakarzinomzellen im peripheren Blut auf molekularer Ebene entwickelt, welches in der klinischen Diagnostik als Therapiemonitoringverfahren postoperativ genutzt werden kann. Über einen präanalytischen Arbeitsschritt wurden Tumorzellen mittels Antikörper aus peripherem Blut isoliert und über ein Panel von Standard-Tumormarkern (EpCAM, MUC - 1, HER - 2) nachgewiesen. Positive Ergebnisse wurden mittels der in dieser Arbeit neu entwickelten Duplex - RT - PCR einer erweiterten Expressionsanalyse zur Ergebnisabsicherung auf die Tumormarker Cytokeratin - 19 und Survivin unterzogen. Als Nachweisverfahren wurde ein RT - PCR Verfahren eingesetzt, welches auf der Amplifizierung von Tumorzell -mRNA beruht, wofür die höchste Sensitivität bekannt ist. Zuvor wurde dieses Nachweisverfahren anhand von etablierten Brustkrebszelllinien getestet, wobei es auf eine Sensitivität von zwei Tumorzellen in 5 ml peripherem Blut eingestellt werden konnte. Weiterhin erfolgte eine Spezifitätsprüfung anhand von Blutproben gesunder Blutspender. Diese belief sich auf 98%.

Anschließend wurde auf disseminierte Tumorzellen im peripheren Blut bei Patientinnen mit primärem Mammakarzinom zum Operationszeitpunkt und im postoperativen Verlauf getestet. Gleichzeitig gelang eine Charakterisierung der Tumorzellen hinsichtlich ihres Tumormarkerexpressionsprofils. Dabei konnte eine deutliche Heterogenität von Mammakarzinomzellen in Bezug auf ihre Oberflächeneigenschaften beobachtet werden, welche im Verlauf eine Änderung aufwies. Die Vorteile des Einsatzes eines Multimarkersystems sind somit klar erkennbar.

Bei 16% der Patientinnen mit primärem Mammakarzinom konnten disseminierte Tumorzellen mit den Standardmarkern nachgewiesen werden. Die in dieser Arbeit etablierte Duplex - RT - PCR erbrachte positive Ergebnisse für Cytokeratin - 19 in 13% und für Survivin in 23% der Fälle. Dabei konnten keine unterschiedlichen Expressionsraten für nodalnegative und nodalpositive Patientinnen erkannt werden. Im weiteren Krankheitsverlauf wurden im Zusammenhang mit adjuvanten Therapieverfahren insgesamt abnehmende Positivitätsraten verzeichnet. In einigen Fällen konnte ein erneuter Nachweis von zirkulierenden Tumorzellen mit stattgefundener Rezidivierung bzw. Metastasierung in Einklang gebracht werden. Dies verdeutlicht den prognostischen Wert, der in dieser Arbeit etablierten Duplex - RT - PCR.