

Wasim Nasser

Dr. med. dent.

## **Zellbiologische Diagnostik an oralen Leukoplakien: Suche nach Proteinbiomarkern für die maligne Transformation**

Promotionsfach: Mund-Zahn-Kieferheilkunde

Doktorvater: Herr Prof. (apl.) Dr. med. Dr. med. dent. Ch. Hofele, M. Sc.

Das Risiko der malignen Entartung von oralen Leukoplakien ist trotz umfangreicher Untersuchungen noch immer weitgehend unklar. Dies trifft ganz besonders auf die sogenannten einfachen Leukoplakien zu, die (noch) keine dysplastischen Merkmale aufweisen und deshalb als fakultative Präkanzerosen gelten. Molekularbiologische Untersuchungen sollen helfen, zelluläre Veränderungen aufzuzeigen, noch bevor diese histologisch zu erkennen sind. Damit könnten Leukoplakien besser klassifiziert und das individuelle Entartungsrisiko besser abgeschätzt werden. Auf der Ebene der Proteinexpression gelten aberrante Veränderungen bei Proteinen, die wichtige regulatorische Prozesse im Zellzyklus steuern, als potenzielle Biomarker. Dazu zählen die Proteine p53, pRb, p16<sup>INK4a</sup> und Cyclin D1. Vereinzelt untersucht hat aber keines dieser Proteine überzeugende prädiktive Aussagekraft und prognostische Bedeutung gezeigt. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob kombinatorisch aberrante Expressionsmuster, eine erhöhte Proliferation einschließend, den prädiktiven Wert dieser Biomarker steigern.

Unter insgesamt 66 untersuchten Präparaten waren 37 einfache Leukoplakien, 7 dysplastische Leukoplakien, jeweils von Nichttumorpatienten. 5 Präparate einfacher Leukoplakien und 9 Präparate dysplastischer Leukoplakien stammten von Tumorpatienten, und 8 Tumorbiopsien dienten als Referenzgruppe. Die Gewebeschnitte wurden mit spezifischen Antikörpern gegen Ki-67 (Proliferationsmarker), Cytokeratin 14 (Differenzierungsmarker), das Retinoblastom-Protein pRb, p53, p16<sup>INK4a</sup> und Cyclin D1 immunhistochemisch gefärbt und durch zwei verschiedene Detektionssysteme (ImmPRESS Detection System, Tyramid Signal Amplification-System) analysiert. Aufgabe war es, das Expressionsniveau dieser Proteine in den verschiedenen Gewebegruppen semiquantitativ zu bestimmen. Neben der Verteilung der einzelnen Marker galt es insbesondere, die aberrante Expression von bestimmten Kombinationen dieser Proteine zu den verschiedenen Gewebegruppen in Beziehung zu setzen und so mögliche prädiktive Kombinationen zu ermitteln.

In Bestätigung früherer Arbeiten zeigten die Einzeluntersuchungen, dass p53 und Cyclin D1 mit der Progression von der einfachen Leukoplakie zum Tumor zunehmend überexprimiert wurden, während die Expression von p16<sup>INK4a</sup> zunehmend verloren ging. Die p53-Überexpression und der Verlust der p16<sup>INK4a</sup>-Expression, aber nicht die aberrante

Cyclin D1-Expression korrelierten auch mit verstärkter Proliferation (Ki-67-Expression). Wie sich am Beispiel von p53 besonders deutlich zeigen lässt, wiesen die einzelnen Marker jedoch keine oder nur eine geringe prädiktive Wertigkeit auf: fast die Hälfte aller einfachen Leukoplakien zeigten bereits die p53-Überexpression, was die Entartungsrate bei weitem übersteigt.

Die Expression des Differenzierungsmarkers Cytokeratin 14 und des Tumorsuppressorproteins pRb blieb in den verschiedenen Gewebegruppen im Wesentlichen unverändert, und keine der Leukoplakien wies eine p16<sup>INK4a</sup>-Überexpression auf. Die reduzierte pRb- und hochregulierte p16<sup>INK4a</sup>-Expression, (oft begleitet von reduzierter Cytokeratin 14-Expression) sind sehr zuverlässige Surrogatmarker für eine HPV-Infektion. Deshalb sprechen diese Ergebnisse gegen eine Beteiligung von HPV an Entstehung und Progression von oralen Leukoplakien.

Es zeigte sich jedoch, dass bestimmte kombinierte aberrante Expressionsmuster von p53, Cyclin D1, Ki-67 (jeweils Überexpression) und p16<sup>INK4a</sup> (Expressionsverlust) sehr gut mit der Progression der Leukoplakien korrelierten. Bereits die aberrante p53/p16<sup>INK4a</sup>-Expression reduzierte sich in den einfachen Leukoplakien auf einen Anteil von 19%, und der Anteil reduzierte sich weiter auf 11,1% für die aberrante p53/p16<sup>INK4a</sup>/Ki-67-Expression. Die kombinierte aberrante Expression von p53/p16<sup>INK4a</sup>/Ki-67 bietet, eher als p53/p16<sup>INK4a</sup>/Cyclin D1, einen interessanten und vielversprechenden Ansatz, um zu einem kombinatorischen Biomarker für die Progression und maligne Entartung von einfachen Leukoplakien zu gelangen. Da lückenlose Verlaufsdaten nur im Rahmen einer klinischen Studie gewährleistet sind, sollten weitergehende immunhistochemische Untersuchungen in einer langfristig angelegten klinischen Studie durchgeführt werden.