

Patrick Michael Riedmaier

## **Die Bedeutung der Quantifizierung zellfreier zirkulierender DNA bei Patienten mit neoplastischen Veränderungen der Kolonmukosa**

Promotionsfach: Chirurgie

Doktorvater: PD Dr. med. Moritz Koch

Die bisher verfügbaren Früherkennungsmaßnahmen (Koloskopie, Sigmoidoskopie, FOBT) für das KRK haben eine gute Sensitivität und Spezifität. Dennoch wird die Effizienz des seit dem Jahr 2002 verfügbaren Vorsorgeprogramms als gering eingeschätzt, da trotz Aufklärungskampagnen nur 30 bis 40 % Bevölkerung daran teilnehmen.

Ein serum- / plasmabasierter Tumormarker für das KRK steht bislang nicht zur Verfügung. Ein solcher könnte die Effizienz der Vorsorge steigern und so die Mortalität dieser häufig vorkommenden Krebserkrankung weiter senken. Zudem fehlt in der ärztlichen Praxis ein Prognosemarker, der eine individuelle Einschätzung zum Verlauf der Erkrankung erlaubt.

Um die Frage zu beantworten, ob zellfreie, im Blut zirkulierende DNA ein solcher Biomarker sein könnte, wurden die cfDNA-Plasmakonzentration und die DNA-Integrität von 154 Patienten mit kolorektalem Karzinom, 24 Patienten mit Kolonadenom und von 56 gesunden Probanden bestimmt. Zur Extraktion der cfDNA wurden die Plasmaproben mit dem *QIAmp DNA Blood Mini Kit* (Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland) nach modifiziertem Protokoll behandelt. Die cfDNA-Plasmakonzentration wurde mit qPCRs bestimmt. Es wurde ein selbstentworfenen Taqman-Assay für das *Beta-Globin* Gen und ein SYBR-Green Assay für zwei Fragmente der *Alu*-Sequenz verwendet (*Alu115*, *Alu247*).

Die cfDNA-Konzentrationen der KRK-Patienten im UICC-Stadium I-II war geringer als im fortgeschrittenen Stadium III-IV der Erkrankung (für *Alu115*, *Alu247*, *Beta-Globin*). KRK-Patienten aller Stadien wiesen signifikant größere cfDNA-Plasmaspiegel auf, als die gesunden Probanden und Kolonadenompatienten ( $p < 0,05$ ). Ein Unterschied der cfDNA-Konzentrationen zwischen gesunden Probanden und Kolonadenompatienten zeigte sich nicht. Die DNA-Integrität der KRK-Patienten war insgesamt geringer als bei den gesunden Probanden und Kolonadenom-Patienten. Ein signifikanter Unterschied bestand zwischen KRK-Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung (UICC Stadium III-IV) und gesunden Probanden bzw. Kolonadenompatienten. Die ROC-Curve-Analyse zur Evaluierung der Bedeutung der cfDNA-Plasmakonzentration und der DNA-Integrität als Tumormarker für das KRK ergab folgende Werte:  $AUC_{Alu115} = 0,70$ ;  $AUC_{Alu247} = 0,66$ ;  $AUC_{Beta-Globin} = 0,70$ ;  $AUC_{DNA\ Integrität} = 0,62$ .

Die vorliegende Studie zeigte eine Assoziation von geringeren cfDNA-Plasmakonzentrationen bei Patienten mit einem KRK im UICC Stadium I-II im Vergleich zu höheren Plasmaspiegeln bei Patienten im UICC Stadium III-IV. Eine prognostische Bedeutung des Parameters zum Krankheitsverlauf liegt damit Nahe und muss in weiteren Arbeiten untersucht werden. Das Potential der cfDNA-Plasmakonzentration und DNA-Integrität als Früherkennungsmarker für das KRK war mittel bis gering. Eine Weiterentwicklung der Methodik wird nötig sein, um eine abschließende Aussage dazu treffen zu können.