

Matthias Raffaello Beyer  
Sebastian Blum  
Dr. med.

## **Telemetrische DNA-Bildzytometrie sowie kombinierte Immun- und Ligandohistochemie zur verbesserten Diagnostik bei Erkrankungen der Pleura und Erkennung prognoserelevanter Parameter**

Matthias Raffaello Beyer:

Geboren am 04.11.1972 in Milano/ Italien  
Reifeprüfung am 25.05.1992 in Hannover  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1993/94 bis SS 2001  
Physikum am 20.03.1996 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Heidelberg  
Staatsexamen am 07.05.2001 an der Universität Heidelberg

Sebastian Blum:

Geboren am 27.05.1977 in Ludwigshafen  
Reifeprüfung 13.05.1993 in Heidelberg  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1993/94 bis SS 2001  
Physikum am 19.03.1996 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Heidelberg  
Staatsexamen am 09.05.2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pathologie

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Dr. h.c. Klaus Kayser

Es wird eine Studie zur verbesserten Diagnostik bei benignen und malignen Erkrankungen der Pleura vorgestellt:

Für den ersten Teil dieser Studie wurde das durch Punktion gewonnene Material von 294 nicht selektierten Pleuraergüssen mit der telemetrischen DNA-Bildzytometrie durch Nutzung des Remote Quantitation Servers Euroquant über das Internet ausgewertet. Das Resultat der Zytometrie wurde auf Zusammenhänge mit Überlebenszeiten untersucht. Zusätzlich wurde eine Qualitätskontrolle der durchgeführten Färbungen durchgeführt und die Praktikabilität der internetbasierten Servernutzung evaluiert.

Aufgrund von Ausschlußkriterien, die sich aus dem Consensus-Report der ESACP ergaben und dessen Qualitätsvorgaben für alle Meßreihen erfüllt werden konnten, wurden letztlich 120 Pleuraergüsse ausgemessen und analysiert. Der Euroquant-Server lieferte verlässliche Ergebnisse bei einem mittleren Zeitaufwand von einer Stunde pro Mess- und Auswertzyklus. Keiner der untersuchten benignen Ergüsse (n=42) zeigte DNA-Aneuploidie. Damit ergab sich eine Spezifität der Methode von 100 %. Bezogen auf alle Malignome (n=78), die zu einem malignen Pleuraerguss führten, konnte eine Sensitivität von 91 % ermittelt werden. Die Gesamtheit der durch Mesotheliome bedingten malignen Ergüsse (n=18) erbrachte eine Sensitivität der Methode von 78 %, die durch sekundäre Pleuramalignome verursachten (n=60) konnten mit einer Sensitivität von 95% detektiert werden. Bei der Analyse der Überlebensdaten erwiesen sich das Vorliegen eines malignen Ergusses, DNA-Aneuploidie und vergrößerte Kernflächen als prognostisch ungünstig ( $p < 0,05$ ).

Im zweiten Teil der Studie wurden Gewebeproben von 264 malignen Tumoren der Pleura mittels qualitativer und semiquantitativer Immun- und Ligandohistochemie unter Verwendung von 13 Markern (CEA, Vimentin, Calretinin, HBME-1, Keratin-5, Ki-67, Calcyclin, Ca15-3, Östradiol, Progesteron, GM1, N-Acetyl-D-Glukosamin und Hyaluronsäure) untersucht. Die definitive Diagnose der eingeschlossenen Fälle wurde durch die pathoanatomischen und klinischen Befunde und das endgültige Follow-up über mindestens 50 Wochen gesichert. Das immobilisierte Gangliosid GM1 und Hyaluronsäure wiesen die höchste Sensitivität (93% bzw. 86%) und Spezifität (73% bzw. 87%) für Mesotheliome auf, gefolgt von Calretinin und HBME-1. Mit vergleichbarer Sensitivität und hoher Spezifität von 77% und 70% bzw. 91% und 85 % wurden Anti-CEA und das GlcNAc-Neoglykoprotein zur Identifizierung von metastasierenden Karzinomen nachgewiesen. Eine Sonderstellung nehmen die Mammakarzinome ein, da diese in deutlich geringerem Maße die untersuchten Epitope exprimierten.

Unter allen Malignomen erwies sich die Bindungsfähigkeit für Calretinin, GM1 und HBME-1 als prognostisch günstig.

Bei den Bronchialkarzinomen ergab Negativität für Anti-CEA und bei den epitheloiden Mesotheliomen Positivität für Anti-Ker5 nachteilige Überlebensraten.

Als Maß für die proliferative Aktivität der Malignome erwies sich der MIB-1-labeling-Index bei Grenzziehung > 5% als prognostisch ungünstig.