

Heiko, Frank Sprenger

## **Serumantikörper gegen die Proteine p53, mdm2 und p21/waf1 und Nachweis der Proteine p53 und mdm2 in menschlichen Tumorgeweben**

Geboren am 03.12.1966 in Bad Wimpfen

Reifeprüfung am 22.05.1987 in Heilbronn

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS1989 bis WS 1997/1998

Physikum am 03.09.1991 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Sinsheim und Bern (Schweiz)

3. Staatsexamen am 12.11.1997 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. P. Drings

In der vorliegenden Arbeit werden die Nachweise von Anti-p53, Anti-mdm2 und Anti-waf1 Antikörpern mit klinischen Parametern verglichen. Hierzu wurden primär die Proteine hergestellt, die für die Bindung der Antikörper notwendig sind.

Als weiterer Schritt wurde eine geeignete Nachweismethode gesucht. Hierbei wurden die Substrat- und die Antikörperkonzentrationen für die entsprechenden Methoden bestimmt. Es zeigt sich, dass das ELISA-Verfahren eine zuverlässige Screening-Methode ist, um die Anti-p53, -mdm2 und -waf1 Antikörper in Seren nachzuweisen. Die Werte im Bereich des *cut-offs*, sollten, je nach Abhängigkeit des Proteins, sinnvollerweise mit der spezifischeren Western-Blot-Methode nachkontrolliert werden. Dies ergibt, dass die schnellere ELISA-Methode zum *screenen* der Seren eingesetzt werden sollte, während der Western-Blot zur Spezifizierung der unklaren Werte verwendet werden sollte.

Des Weiteren wird aufgezeigt, dass eine hohe Übereinstimmung zwischen den nachgewiesenen Proteinen im Tumor und dem Anti-p53 und -mdm2 Antikörpernachweis im Serum vorliegt.

Die Antikörperbindungsstelle zeigt bei den jeweiligen Proteinmutationen, dass p53 überwiegend im hinteren Proteindrittel, und dass mdm2 häufiger in der ersten Hälfte des Proteins gebunden wird.

Bei vorhandenem Antikörpernachweis, wurde in den Seren weiterhin untersucht, ob sie IgG-, IgM- und IgA-Antikörper besitzen. Hierbei zeigen sich keine großen Unterschiede, ob Patienten Tumore besitzen oder ob sie tumorfrei sind.

Anschließend wurden die laborchemischen Daten mit den klinischen Daten verglichen, hierbei ergeben sich einige Signifikanzen.

Es ergeben sich keine großen Unterschiede bezüglich des Lebensalters der Patienten mit positivem Antikörpernachweis und jenen ohne Antikörpernachweis.

Bei der Überlebensrate zeigt sich, dass Patientinnen mit nachgewiesenen Anti-p53 Antikörpern im Serum bei der Diagnose Mammakarzinom eine signifikant schlechtere Überlebensrate haben. Bei den anderen Tumorarten und in der Gesamtmenge ergibt sich hier kein signifikanter Unterschied. Bei der Geschlechtsverteilung sind keine nennenswerten Unterschiede vorhanden. Bei den Tumormarkern CEA und NSE zeigt sich überwiegend, dass die antikörperpositiven Seren im Durchschnitt höhere Werte aufweisen, als die negativ getesteten. Die Analyse der Serumeiweiße in Bezug auf die antikörperpositiven und -negativen Seren, ergibt keine Signifikanz. Bei den exogenen Faktoren, wie Alkohol und Rauchen, ergeben sich bezüglich des Alkohols keine Unterschiede. Bei Rauchern zeigt sich ein signifikanter Unterschied, da sich bei

ihnen mehr Anti-p53 Antikörper nachweisen lassen, als bei Nichtrauchern. Bei den Proteinen mdm2 und waf1 zeigen sich hier keine Signifikanzen. Hinsichtlich der TNM-Klassifikation zeigt sich bei mdm2 zwischen N<sub>0</sub> zu N<sub>1</sub> ein signifikanter Unterschied, beim Grading besteht dieser bei p53 zwischen G<sub>2</sub> und G<sub>3</sub>. Die restlichen Vergleiche in der TNM-Klassifikation ergeben zwar zum Teil deutliche Unterschiede, aber keine Signifikanzen. Auch in der Stadiengruppierung von I bis IV ergeben sich keine ausreichenden Unterschiede. Wenn man die verschiedenen Therapieformen miteinander vergleicht, ergeben sich bezüglich des Antikörpernachweises der Proteine deutliche Unterschiede. So weisen Erkrankte mit Strahlentherapie und anschließender Chemotherapie die geringste Antikörpernachweisrate auf.

Im Therapieverlauf zeigte sich, dass im Durchschnitt die Anti-p53 Antikörper unter Therapie deutlich abnehmen. Bei mdm2 sinkt dieser Antikörpernachweis nur gering ab, während bei waf 1 der Therapieverlauf auf den Antikörpernachweis fast keinen Einfluss hat.

Bei vielen untersuchten klinischen Faktoren zeigen sich deutliche Unterschiede, jedoch sind die Fallzahlen zu gering, damit sich daraus Signifikanzen ergeben.

Führt man diese Untersuchungen unter Verwendung größerer Fallzahlen fort, so könnten sich weitere Signifikanzen ergeben.