

Ingrid M. Metz  
Dr. med.

**Disseminierte Tumorzellen beim primären Mammakarzinom:  
Evaluierung von immunomagnetischer Anreicherung und  
Vergleichende Analyse immunzytologischer und RT-PCR basierender Nachweisverfahren**

Geboren am 22.03.1976 in Schabmünchen, Kreis Augsburg

Reifeprüfung am 28.06.1996 in Türkheim

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1996 bis SS 2003

Physikum am 16.09.1998 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Chirurgie an der Northwestern University und der University of Chicago, USA, in Innerer Medizin am Kantonsspital Basel, in Frauenheilkunde und Geburtshilfe an der Universitäts-Frauenklinik Heidelberg

Promotionsfach: Pathologie

Doktorvater: Professor Dr. med. Magnus von Knebel Doeberitz

Die Suche nach okkulten Metastasen bei Patienten mit in kurativer Absicht (R0) resezierten Tumoren ist von großer Bedeutung, da die frühe Disseminierung von Malignomzellen als eine der führenden Ursachen für ein Wiederauftreten, bzw. Fortschreiten der Erkrankung im Sinne einer hämatogenen oder lymphogenen Metastasierung des Primärtumors angesehen wird. Das Vorliegen von Filiae in lebenswichtigen Organsystemen und ein eventuell daraus resultierendes Multiorganversagen gehören zu den häufigsten Todesursachen von Patienten mit malignen neoplastischen Erkrankungen. Immunzytochemische Methoden zum Nachweis disseminierter Tumoreinzellen im Knochenmark wurden ursprünglich für Patientinnen mit einem Mammakarzinom entwickelt. Sie werden heute bei unterschiedlichsten Tumorentitäten analysiert.

Zahlreiche Studien zeigten, dass der Nachweis solcher disseminierter Mammakarzinomzellen einen unabhängigen prognostischen Parameter darstellt, der von großer Bedeutung hinsichtlich des Metastasierungsrisikos der Patientinnen ist. Diese Studien untersuchten immunzytologische und molekularbiologische Methoden, die alle mit dem Ziel des disseminierten Tumorzellnachweises optimiert und standardisiert wurden.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zunächst einen *in vitro* Methodenvergleich immunomagnetischer Anreicherungsprotokolle durchzuführen und diese zu optimieren und zu etablieren. Im Anschluss daran wurde die sensitivste Anreicherungs-methode mit der konventionell etablierten Immunzytologie und einem weiteren magnetischen Anreicherungsverfahren mit nachfolgendem CK 19 RT-PCR-Nachweis in einer klinischen Pilotstudie verglichen. Dabei sollte vor allem die klinische Anwendbarkeit und die Logistik für eine weitere Studie mit Einschluss einer größeren Anzahl von Patientinnen getestet und optimiert werden.

1. Alle evaluierten Anreicherungs-methoden wiesen *in vitro* und *in vivo* eine Spezifität von 100% auf. Die Untersuchung von Blut- und Knochenmarksproben von Patientinnen mit einem benignen Mammatumor erbrachte keinen falsch-positiven Nachweis von Zellen epithelialen Ursprungs.
2. Die konventionelle Immunhistologie zeigte Detektionsraten, die vergleichbar mit den getesteten Leukozytendepletionsverfahren waren.

3. Die Anreicherung mit Anti-Panzytokeratinantikörpern (CK 7/8/18) wies die höchste Anreicherungseffizienz auf. Reproduzierbar wurden 30% der Tumorzellen aus Kultur in den Ansätzen mit  $10$  in  $10^8$  mononukleären Blutzellen nachgewiesen.
4. Unter klinischen Bedingungen fanden wir im Knochenmark im Gegensatz zu Blut höhere Nachweisraten disseminierter Tumoreinzellen. Die Kombination von immunomagnetischer Anreicherung und konsekutivem CK 19 RT-PCR-Nachweis erbrachte keinen Vorteil gegenüber der magnetischen Anreicherung und anschließendem immunozytologischem Nachweis. Limitierender Faktor war hierbei jedoch die kleine Studienpopulation (n=67).
5. Die über zwei Jahre nach der Diagnosestellung erhobenen Follow-up Daten identifizierten keinen der analysierten Marker als verlässlichen Parameter, der eine Aussage in Bezug auf ein erhöhtes Metastasierungsrisiko der Patientinnen erlaubte.