

Kolja Freier

Dr. med. Dr. med. dent.

## **Genetisches Profiling adenoidzystischer Karzinome der Speicheldrüsen mittels Vergleichender Genomischer Hybridisierung und Fluoreszenz in-situ Hybridisierung auf Gewebemikroarrays**

Geboren am 04.01.1973 in Heidelberg

Staatsexamen der Zahnmedizin am 20.04.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Mund-Zahn-Kieferheilkunde

Doktorvater: Professor Dr. med. Dr. med. dent. J. Mühling

Adenoidzystische Karzinome sind mit 15% aller Speicheldrüsentumoren die zweithäufigsten malignen Speicheldrüsenneoplasien. Sie treten sowohl in allen großen Speicheldrüsen als auch in den kleinen Speicheldrüsen der Mundschleimhaut auf. Typische klinische Merkmale dieser Tumoren sind das sehr langsame, aber progrediente, diffus infiltrative Wachstum in umgebende Gewebe und entlang von Nerv- und Gefäßscheiden und hohe Lokalrezidivraten. Histopathologisch lassen sich niedrig-maligne cribriform- und tubulär-differenzierte Phänotypen von einem hochmalignen solide-differenzierten Phänotyp unterscheiden, ohne dass dieses Merkmal entscheidende prognostische Bedeutung besäße. Da auch sonstige herkömmliche klinische Parameter wie Tumorgröße und -lokalisation sowie das TNM-Stadium nur ungenügend die biologische Situation der Tumoren wiedergeben und lediglich eine eingeschränkte prognostische Aussage über den Verlauf der Tumorerkrankung erlauben, besteht ein dringender Bedarf für die Definition zytogenetischer Marker für spezifische Stadien der Tumorentwicklung, die eine genauere Typisierung der Läsionen ermöglichen würden. Die zellulären Ereignisse auf DNA-Ebene während der Entwicklung adenoidzystischer Karzinome der Speicheldrüsen sind komplex und ihre Bedeutung in der Pathogenese bis jetzt nur wenig verstanden. Es wird jedoch vermutet, dass wie bei vielen anderen Tumorentitäten chromosomale Imbalancen an der Initiation und Progression adenoidzystischer Karzinome der Speicheldrüsen beteiligt sind, wobei es zu Amplifikationen von Proto-Onkogenen und Deletionen von Tumor-Suppressorgenen kommt.

In der vorliegenden Studie wurde mit der Technik der Vergleichenden Genomischen Hybridisierung (CGH) eine Serie von 27 adenoidzystischen Karzinomen der Speicheldrüsen auf chromosomale Aberrationen untersucht. Dabei wiesen 13 Tumoren einen cribriformen, 5 einen tubulären und 9 einen soliden histopathologischen Phänotyp auf. 16 der Tumoren waren Primär- und 9 Rezidivtumoren. Bei 22 der 27 untersuchten Tumoren konnten genetische Imbalancen detektiert werden. Die häufigsten nachgewiesenen genetischen Imbalancen war der Zugewinn von Genkopienzahlen auf Chromosom 22 mit der minimal-überlappenden Region 22q13 in insgesamt 9 von 27 Fällen und auf Chromosom 16p in 7 Fällen sowie Deletionen genetischen Materials auf Chromosom 6q in 6 Fällen. Die Prävalenz der häufigsten detektierten Aberration auf 22q13 wurde durch Fluoreszenz in-situ Hybridisierung (FISH) mit den spezifischen BAC/PAC-Klonen *CTA-150C2*, *CTA-268H5*, *CTA-941F9*, *RP3-477J10* und *RP5-925-J7* an einem Kollektiv von 57 adenoidzystischen Karzinomen der Speicheldrüsen auf einem Gewebemikroarray überprüft. Darunter befanden sich 28 cribriforme, 11 tubuläre und 18 solide adenoid-cystische Karzinome der Speicheldrüsen von 45 Patienten, davon waren 33 Primärtumoren und 24 Rezidive. In 17 von 57 Fällen ließ sich ein Zugewinn von Genkopienzahlen mindestens eines der 5 untersuchten BAC/PAC-Klone auf der chromosomalen Bande 22q13 nachweisen. Darüber hinaus konnte durch die FISH-Experimente gezeigt werden, dass die innerhalb der minimal-amplifizierten Region 22q13 lokalisierten Proto-Onkogene *PDGFB*, *WNT7B* und *FBLN1* einen Zugewinn an Genkopienzahlen aufwiesen, so dass sie als Kandidatengene für eine Beteiligung an der molekularen Pathogenese adenoidzystischer Karzinome der Speicheldrüsen identifiziert werden konnten.

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass die Kombination von chromosomaler CGH und FISH an Gewebemikroarrays eine sensitive und effektive Methode ist, kritische Regionen mit numerischen Aberrationen in Tumorgenomen zu detektieren und Kandidatengene aus diesen Regionen auf ihre Beteiligung an Aberrationen zu testen. Der in der vorliegenden Studie präsentierte Gewebemikroarray adenoidzystischer Karzinome der Speicheldrüsen wird durch die Verwendung geeigneter FISH-Sonden in zukünftigen Studien hilfreich sein, weitere numerische genetische Aberrationen detaillierter zu analysieren. Insgesamt sollen die Ergebnisse dieser Arbeit dazu beitragen, ein Modell zu entwickeln, das die Abfolge der genetischen Veränderungen beschreibt, die im Verlauf der Progression eines adenoidzystischen Karzinoms der Speicheldrüse entstehen können. So könnte zukünftig die Definition von zytogenetisch definierten Subgruppen von Tumoren mit klinischer Relevanz

für Diagnose und Therapie der Tumorerkrankung möglich sein, um beispielsweise Indikationsstellungen für den Einsatz adjuvanter und neoadjuvanter Therapieverfahren zu evaluieren und auf ihre Wirksamkeit bezüglich einzelner Tumorklone zu überprüfen. Dies würde nicht nur einen großen Fortschritt in der adäquaten Diagnose und Prognose einer Tumorerkrankung bedeuten, es könnten auch neue Parameter für eine stadienangepasste Therapieauswahl definiert werden. Dies wäre ein Beitrag dazu, dass die bis heute trotz großem technischen Aufwand noch mäßigen Therapieerfolge bei adenoidzystischen Karzinomen der Speicheldrüsen in Zukunft entscheidend verbessert werden könnten.