

Meenakshi Aggarwal

Dr. med.

## **Molekulare Charakterisierung von Tumorzellen im Knochenmark bei Patientinnen mit Mammakarzinom**

Promotionsfach: Frauenheilkunde

Doktorvater: Herr Priv.-Doz. Dr. med. habil. Nikos Fersis

Die Letalität des Mammakarzinoms ist hauptsächlich durch das Auftreten multipler Metastasen bedingt. Aus diesem Grund ist der frühzeitige Nachweis mikrometastatischer Zellen im Körper eine Herausforderung auf dem Gebiet der Krebsdiagnostik. Molekularbiologische Methoden übertreffen die klassische Immunzytologie hinsichtlich Reliabilität, Sensitivität und Spezifität. Mit Etablierung der Real-Time RT-PCR bietet sich zudem die Möglichkeit eine Genexpression nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ zu erfassen.

- **Anreicherung von Tumorzellen**

Eine Anreicherung der Knochenmarkproben durch an Magnetbeads gekoppelte, monoklonale Antikörper gegen die Epitope MUC1 und EpCAM konnte die Tumorzellausbeute und somit die Sensitivität erhöhen. Ein 1:1 Mix dieser Magnetbeads ermöglichte die bestmögliche Zellausbeute. Zudem war mit Hilfe dieser Methode eine Untersuchung großer Probenmengen schnell und einfach durchführbar.

- **Etablierung der Marker Mammaglobin-1 und Cytokeratin-19**

Die Real-Time RT-PCR mit dem Gennachweis von Mammaglobin-1 und Cytokeratin-19 bot eine hohe Nachweissensitivität geringer Tumorzellzahlen. Patientinnen mit Metastasen konnten in 71,4 % der Fälle detektiert werden. Bei Negativität der Marker kam es in 94,3 % zu keiner Metastasierung, bei Positivität wird dagegen ein erhöhtes Risiko angezeigt.

Die Stärke der Expression konnte unter Durchführung von Spiking-Experimenten mit einer zuvor definierten Anzahl zugesetzter Tumorzellen quantifiziert werden. So konnte die Tumorzellbelastung der Knochenmarkproben bestimmt werden.

- **Vergleich zwischen Immunzytologie und Real-Time RT-PCR**

Mit Hilfe der Real-Time RT-PCR konnten die Ergebnisse der im Onkologischen Labor der Frauenklinik Heidelberg durchgeführten Immunzytologie bestätigt werden. Nach Umrechnung der mittels RT-qPCR detektierten Tumorzellzahlen auf die Immunzytologie, erhält man mit beiden Methoden eine ähnliche Detektionsrate. Ohne Umrechnung ist die Detektionsrate etwa dreifach größer. Das zeigt, dass mittels RT-qPCR ein sensitiverer Nachweis geringer Tumorzellzahlen bei Korrelation hoher Tumorzellzahlen möglich ist.

- **Vergleich zwischen peripherem Blut und Knochenmark**

Peripheres Blut wurde parallel zu Knochenmark mittels Multimarker RT-qPCR analysiert und verglichen. Die statistische Auswertung ergab jedoch keinen signifikanten Zusammenhang. Somit kann die Untersuchung von Blut die von Knochenmark zum Zeitpunkt der Primäroperation nicht ersetzen. Sie kann lediglich als ergänzende Maßnahme zum Therapie-monitoring und zum Anzeigen einer aktuell stattfindenden Progression verwendet werden.

Zusammenfassend tragen die in dieser Arbeit etablierten Verfahren zu einer Sensitivitäts- und Spezifitätsoptimierung des Nachweisverfahrens bei. Das Vorgehen bietet die Möglichkeit neben den hier etablierten Markern weitere, bisher unbekannte Tumormarker für die Routinediagnostik zu identifizieren. Mit dieser Methode können Patientinnen zuverlässig und unabhängig vom jeweiligen Untersucher zum Zeitpunkt der Primärdiagnose untersucht werden. Ein erhöhtes Risiko für eine Metastasierung kann hiermit frühzeitig und sicher festgestellt werden. Negativität in der Analyse schließt eine systemische Erkrankung praktisch aus. Auf diese Weise kann Patientinnen eine optimierte Vorsorge geboten und so das progressionsfreie Überleben unter Umständen verlängert werden.