



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Einfluss einer intraoperativen Radiotherapie des Mammakarzinoms
auf immunologische Faktoren im Tumorbett**

Autor: Anne Wuhrer
Institut / Klinik: Frauenklinik
Doktorvater: Prof. Dr. S. Berlit

Für die Effektivität der zunehmend eingesetzten intraoperativen Radiotherapie (IORT) wird neben der bekannten radiobiologischen Wirkung eine Alteration des lokalen Milieus der bestrahlten Wundhöhle vermutet. Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, ihren Einfluss auf die zelluläre und humorale Komponente des lokalen Immunsystems im Tumorbett zu untersuchen.

Eingeschlossen wurden 42 Brustkrebs-Patientinnen nach brusterhaltender Therapie. 21 Patientinnen erfuhren eine IORT (IORT-Gruppe), 21 blieben intraoperativ unbestrahlt (Kontrollgruppe). Bei den Patientinnen beider Gruppen wurden intraoperativ 2 Gewebeproben des Tumorbettes zu unterschiedlichen Zeitpunkten entnommen, um MSC zu isolieren und diese mittels FACS und eines qualitativen Differenzierungsassays zu charakterisieren. In der IORT-Gruppe erfolgten die Biopsien vor und nach der IORT, wohingegen im Kontrollkollektiv eine vergleichbare Latenzzeit durch die in der Zwischenzeit durchgeführte Sentinel-Lymphonodektomie (SNB) eingehalten wurde. Zusätzlich wurde Wundflüssigkeit (WF) beider Gruppen über 24 Stunden postoperativ aus Redon-Drainagen gesammelt und einer durchflusszytometrischen und Multiplex-Zytokin-Analyse sowie ELISA unterzogen. Die WF beider Gruppen wurde als Medienzusatz in Kulturen der Brustkrebszelllinie MDA-MB 231 sowie unbestrahlter MSC verwendet, um den Einfluss auf Proliferation, Wundheilung und Migration mittels Live-Cell Imaging zu untersuchen. Die konditionierten Medien des Proliferationsassays der MSC wurden asserviert, um Konzentrationen bestimmter Zytokine mittels ELISA zu ermitteln.

Nach IORT-Anwendung waren lediglich aus einer von 20 Gewebeproben MSC isolierbar, während die Isolationsrate aus unbestrahlten Tumorbett-Biopsien wesentlich höher lag (95 % bei pre-IORT-Biopsien sowie im Kontrollkollektiv 57 % bzw. 66 % vor bzw. nach einer äquivalenten Latenzphase). Die durchflusszytometrische Analyse der postoperativ gewonnenen WF zeigte für keine der analysierten leukozytären Subpopulationen der myeloischen und lymphoiden Reihe einen gruppenassoziierten, signifikanten Unterschied hinsichtlich Zellzahl, Aktivierungszustand oder Vitalität. Die Zytokin-Analyse der WF beider Gruppen ergab signifikant unterschiedliche Zytokinspiegel für Oncostatin-M ($p = 0,04$), Leptin ($p = 0,02$) und IL-1 β ($p = 0,04$). Als Zusatz in Kulturmedien unbestrahlter MSC bewirkte die WF der bestrahlten Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe eine signifikante Einschränkung der Proliferation ($p < 0,0001$), der Wundheilungsfähigkeit ($p = 0,01$) und des Migrationsverhaltens ($p = 0,02$). Die aus den Proliferations-Assays gewonnenen konditionierten Kulturmedien wiesen gruppenbezogen signifikant unterschiedliche Konzentrationen der Zytokine GRO α ($p < 0,01$), RANTES ($p < 0,01$) und VEGF ($p = 0,03$) auf, was eine Modifikation des Sekretoms der MSC unter der WF intraoperativ bestrahlter Patientinnen indiziert. Unter Zusatz der WF in Kulturmedien der Brustkrebszelllinie MDA MB-231 zeigte sich im Vergleich beider Gruppen kein signifikanter Unterschied in der Proliferation, der Wundheilung und im Migrationsverhalten der Zellen.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass eine IORT Faktoren des lokalen Immunsystems im Tumorbett beeinflusst. Einerseits scheint das Wachstum der MSC sowohl durch eine direkt radiotoxische Wirkung als auch durch die Konditionierung des Mikromilieus im Sinne einer Alteration des Zytokinprofils negativ beeinflusst zu werden. Auch das Sekretom der MSC scheint durch den Einfluss der Bestrahlung auf das lokale Milieu modifiziert zu werden. Zusammengefasst unterstreichen unsere Daten, dass eine IORT zu einer Veränderung des Tumorbettes führt und so möglicherweise zur Generierung eines für die Entstehung von Lokalrezidiven weniger vorteilhaften Milieus beiträgt.