



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

**Einfluss intratumoraler Heterogenität und klonaler Evolution auf
das Therapieansprechen von Rektumkarzinomen**

Autor: Judith Lieberich
Institut / Klinik: Pathologisches Institut
Doktorvater: Prof. Dr. T. Gaiser

Hintergrund: Das Rektumkarzinom trägt durch seine hohe Inzidenz wesentlich zum Auftreten Tumor-assoziiierter Morbidität und Mortalität in Deutschland bei. Ein Bestandteil der leitliniengerechten Therapie ist bei lokal fortgeschrittenen Rektumkarzinomen die neoadjuvante Radiochemotherapie (RCT). Trotz prätherapeutisch gleichen Tumorstadiums und gleicher Tumormorphologie fallen die Ansprechraten sehr unterschiedlich aus: So erreichen nur 10,4% der Tumoren eine komplette pathologische Regression (Tumorregressionsgrad, TRG 4), während eine partielle pathologische Regression (TRG 3 und 2) in 66,0% der Tumorsektate gefunden wurde und 23,6% keine bzw. nahezu keine (TRG 1 und 0) histomorphologisch fassbare Tumorregression zeigten (Rödel et al., 2005). Bislang existiert kein verlässlicher und in der Diagnostik einsetzbarer Marker, der eine zuverlässige Vorhersage des Ansprechens auf eine perioperative Radiochemotherapie erlaubt. Vor diesem Hintergrund führten wir eine vergleichende Analyse der Dynamik genetischer Alterationen auf Einzelzellebene vor und nach neoadjuvanter RCT durch.

Methode: Das Kollektiv umfasste zehn therapierte Rektumkarzinome sowie eine Kontrollgruppe von fünf therapienaiven Fällen (je Material aus Biopsie, Resektat und z.T. Metastase). Es wurde ein Protokoll etabliert um mit der sog. Immuno-miFISH-Methode Kopienzahlveränderungen auf Einzelzellebene zu untersuchen. Diese Methode erlaubte die Analyse intakter, nicht überlappender Nuclei und damit die exakte Quantifizierung von Kopienzahlveränderungen, die an den standardmäßig in der Routinediagnostik verwendeten Flächenschnitten nicht möglich ist. Insgesamt 15, zu drei Panels zusammengefasste FISH-Sonden wurden konsekutiv auf demselben Cytospin-Präparat hybridisiert, wodurch alle 15 Genregionen in denselben Nuclei evaluiert werden konnten.

Ergebnis: Es gelang ein stabiles Protokoll zur Einzelzellanalyse mittels immuno-miFISH zu etablieren. Damit konnte das Ausmaß an Kopienzahlveränderungen und genomischer Instabilität analysiert und damit die inter- sowie intratumorale Heterogenität von Rektumkarzinomen abgebildet werden. Wie zu erwarten waren dabei Kopienzahlveränderungen in den „klassischen“ Loci wie sie in der Literatur bereits vorbeschrieben wurden zu beobachten (z.B. *APC*, *KRAS* und *TP53*) (Fearon and Vogelstein, 1990; Zhang et al., 2020). Die therapienaiven Fälle zeigten im Vergleich eine weitgehend stabile klonale Zusammensetzung, während die therapierten Fälle unter dem Selektionsdruck der RCT eine größere Tendenz zu klonalen Veränderungen hatten. Dabei schienen Klone mit *TP53* Alterationen einen Überlebensvorteil zu haben. Basierend auf den klonalen Verschiebungen und der genomischen Instabilität wurden unterschiedliche Muster der Tumorevolution unter RCT-Einfluss beschrieben.

Ausblick: Auf Grund der dargestellten inter- und intratumoralen Heterogenität konnte die Bedeutung von Einzelzellanalysen zum Verständnis der klonalen Evolution von Rektumkarzinomen unterstrichen werden. In Zukunft sollte durch den Einsatz eines größeren Studienkollektivs der Einfluss von spezifischen Klonen auf das Therapieansprechen weiter exploriert werden, um die individualisierte und zielgerichtete Therapie von Rektumkarzinomen voranzutreiben und so langfristig das klinische Outcome von Patienten zu verbessern.