

Zwischenbericht

Aktueller Stand der Arbeit

1. Charakterisierung der DNA Schadensantwort und der Replikationsprozesse der CTC-Linie ITB-001 im Vergleich zu einer primären basalen und einer luminalen Tumorzelllinie nach Bestrahlung.

Zur Charakterisierung der Replikationsprozesse wurde der DNA Fiber Assay in der CTC-Linie ITB-001 sowie in der luminalen Mammakarzinom-Zelllinie MCF7 und der basalen Brustkrebs-Zelllinie MDA MB 231 durchgeführt.

Das Protokoll des DNA Fiber Assays sah sowohl eine Bestrahlung mit 6 Gy, eine Inkubation mit dem PARP-Inhibitor Olaparib sowie die kombinierte Behandlung vor und wurde mit einer unbehandelten Kontrollprobe verglichen. Alle notwendigen Experimente sind durchgeführt, die Auswertung und vollständige statistische Auswertung ist aktuell noch ausstehend. Erste Ergebnisse weisen allerdings auf eine Strahlenresistenz der CTCs hin, welche durch die Hinzugabe eines PARP-Inhibitors deutlich gesenkt werden kann (Abb. 1).

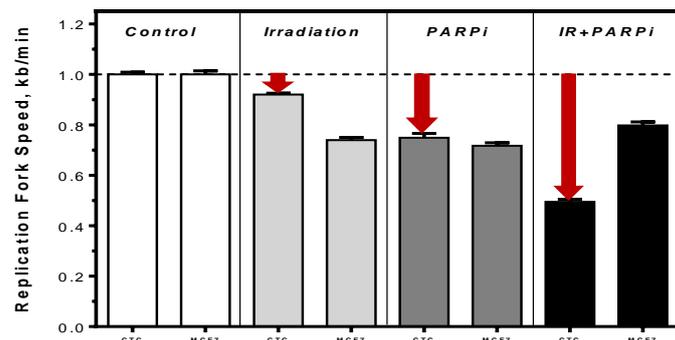


Abbildung 1

Im Weiteren ist noch die Charakterisierung der Replikationsprozesse mehrerer Subklone der CTC-Linie ITB-001 geplant.

Die DNA-Schadensantwort der CTC-Linie ITB 001 im Vergleich zu den beiden Mammakarzinom-Zelllinien konnte nach erfolgreicher Etablierung geeigneter Antikörper ebenfalls bereits mittels immunhistologischer Färbungen untersucht werden. Erste Analysen weisen auch hier auf eine höhere Strahlenresistenz der CTC-Linie im Vergleich zur Referenzlinie MCF 7 hin (Abb. 2).

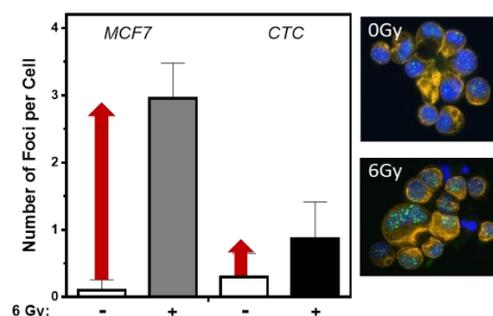
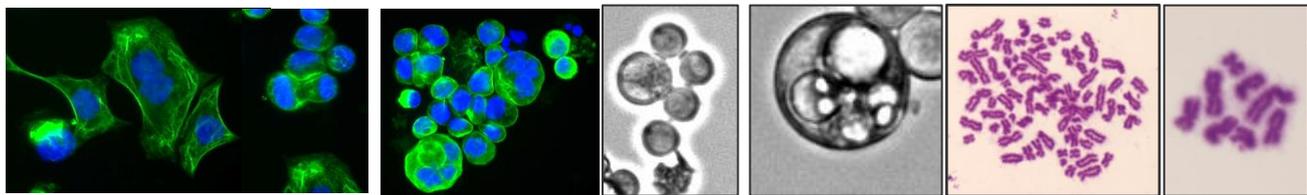
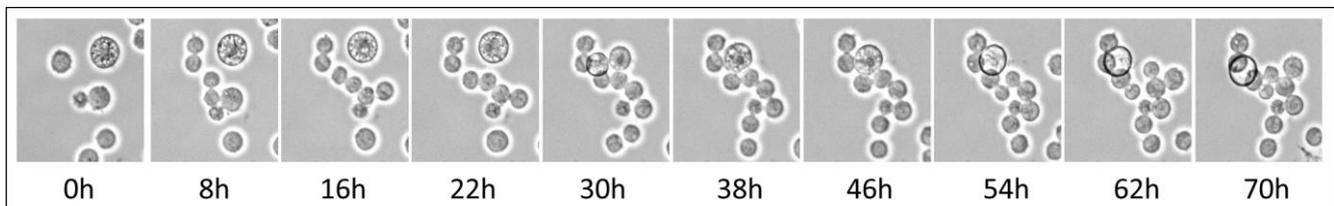


Abbildung 2

Weitere immunhistologische Untersuchungen zeigen, dass die CTC-Zelllinie einen sehr heterogenen Phänotyp aufweist. Sie besteht aus zwei, voneinander abhängigen Zellpopulationen, die in beiden Richtungen dynamisch miteinander interagieren können. Eine adhärenente, epitheliale Population und eine fluide, oftmals in Clustern vorliegende, mit einem mesenchymalen Phänotyp. In beiden Zellpopulationen zeigt sich eine große Variation in der Zellgröße, wobei große Zellen mehrere Zellkerne aufzuweisen scheinen. Die Heterogenität der Zellen spiegelt sich auch in der Anzahl der Chromosomen wider, sie divergiert zwischen 8 – 82 und liegt im median bei 74 Chromosomen. Die CTC-Zelllinie zeigt darüber nur eine geringe Proliferationsrate (Abb. 3).



Adhärenente Zellen Fluide Zellen Cluster Multiple Nuclei Metaphasen



Dynamik und Proliferation eines CTC-Clusters

Abbildung 3

Aufgrund dieser Heterogenität wird momentan eine separate Analyse der DNA-Schadensantworten in den verschiedenen Sub-Phänotypen durchgeführt.

2. DNA Schadensantwort und Replikationsprozesse in CTCs und in primären Lymphozyten nach ex vivo Bestrahlung von Patientinnen mit ossär metastasiertem Mammakarzinom.

In der ersten Rekrutierungsphase von Patientinnen mit einem ossär metastasiertem Mammakarzinom konnten nur wenige Patientinnen zur Teilnahme an der Studie motiviert werden. Um das Kollektiv sinnvoll zu erweitern wurden deshalb auch Patienten/innen mit cerebral metastasiertem Mamma- oder Bronchialkarzinom mit in diese Studie aufgenommen. Bis zum heutigen Tag konnten so insgesamt 38 Patienten/innen für die Studie gewonnen werden. Bei jeder teilnehmenden Patientin soll jeweils eine Blutentnahme vor der ersten und nach der letzten Bestrahlungssitzung sowie zur ersten Nachsorgeuntersuchung ca. 6-12 Wochen nach Beendigung der Strahlentherapie erfolgen. Inzwischen konnten die ersten Blutentnahmen bis zum Nachsorgezeitpunkt verfolgt werden.

Die CTCs wurden mittels CellSearch detektiert, quantifiziert und hinsichtlich des Auftretens von Apoptose untersucht. Aufgrund der Kodierung können die Ergebnisse erst zum Abschluss der Studie zusammengeführt werden. Die Analyse der DNA-Schadensantwort und Replikationsprozesse der entsprechenden Proben wurden ebenfalls bereits durchgeführt, die Auswertung ist aus den bereits oben genannten Gründen zum jetzigen Zeitpunkt noch ausstehend.

Yvonne Goy, Dr. med.
Ambulanzzentrum des UKE GmbH
-Fachbereich Strahlentherapie/ Radioonkologie-

Martinstraße 52

D-20246 Hamburg

Tel: +49-40-7410 53832

Mobil: +49-15222817112

e-mail: y.goy@uke.de

Kerstin Borgmann, PD Dr. rer. nat.
Labor für Strahlenbiologie & experimentelle
Radioonkologie

Martinstraße 52

D-20246 Hamburg

Tel: +49-40-7410 53596

Fax: +49-40-7410 55139

e-mail: borgmann@uke.de