

Neues aus Wissenschaft und Lehre

**Jahrbuch der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf 2008/2009**

Heinrich Heine
HEINRICH HEINE
UNIVERSITÄT
DÜSSELDORF



d|u|p

düsseldorf university press

**Jahrbuch der
Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf
2008/2009**

**Jahrbuch der
Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf
2008/2009**

**Herausgegeben vom Rektor
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Univ.-Prof. Dr. Dr. H. Michael Piper**

**Konzeption und Redaktion:
Univ.-Prof. em. Dr. Hans Süßmuth**

d|u|p

© düsseldorf university press, Düsseldorf 2010
Einbandgestaltung: Monika Uttendorfer
Titelbild: Leben auf dem Campus
Redaktionsassistent: Georg Stüttgen
Beratung: Friedrich-K. Unterweg
Satz: Friedhelm Sowa, L^AT_EX
Herstellung: WAZ-Druck GmbH & Co. KG, Duisburg
Gesetzt aus der Adobe Times
ISBN 978-3-940671-33-2

Inhalt

Vorwort des Rektors	13
Gedenken	15
Hochschulrat	17
ULRICH HADDING und ERNST THEODOR RIETSCHEL 18 Monate Hochschulrat der Heinrich-Heine-Universität: Sein Selbstverständnis bei konkreten, strategischen Entscheidungsvorgängen	19
Rektorat	25
H. MICHAEL PIPER Ein Jahr des Aufbruchs	27
Medizinische Fakultät	
<i>Dekanat</i>	33
<i>Neu berufene Professorinnen und Professoren</i>	35
JOACHIM WINDOLF (Dekan) Bericht der Medizinischen Fakultät	41
MALTE KELM, MIRIAM CORTESE-KROTT, ULRIKE HENDGEN-COTTA und PATRICK HORN Stickstoffmonoxid und Nitrit als Mediatoren im kardiovaskulären System: Synthesewege, Speicherformen und Wirkmechanismen	49
JULIA SZENDRÖDI und MICHAEL RODEN Die Bedeutung der mitochondrialen Funktion für die Entstehung von Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes	63
BETTINA POLLOK, MARKUS BUTZ, MARTIN SÜDMEYER, LARS WOJTECKI und ALFONS SCHNITZLER Funktion und Dysfunktion motorischer Netzwerke	81
WOLFGANG JANNI, PHILIP HEPP und DIETER NIEDERACHER Der Nachweis von isolierten Tumorzellen in Knochenmark und Blut von Patientinnen mit primärem Mammakarzinom – Standardisierte Methodik und klinische Relevanz	95
ROBERT RABENALT, VOLKER MÜLLER-MATTHEIS und PETER ALBERS Fortschritte in der operativen Behandlung des Prostatakarzinoms	111

MARCUS JÄGER, CHRISTOPH ZILKENS und RÜDIGER KRAUSPE Neue Materialien, neue Techniken: Hüftendoprothetik am Anfang des 21. Jahrhunderts	121
CHRISTIAN NAUJOKS, JÖRG HANDSCHEL und NORBERT KÜBLER Aktueller Stand des osteogenen Tissue-Engineerings.....	137
ULLA STUMPF und JOACHIM WINDOLF Alterstraumatologie: Herausforderung und Bestandteil der Zukunft in der Unfallchirurgie	153
ALFONS LABISCH Die säkularen Umbrüche der Lebens- und Wissenschaftswelten und die Medizin – Ärztliches Handeln im 21. Jahrhundert	161
Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät	
<i>Dekanat</i>	175
<i>Neu berufene Professorinnen und Professoren</i>	177
ULRICH RÜTHER (Dekan) Die Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät im Jahr 2008/2009	181
FRITZ GRUNEWALD Primzahlen und Kryptographie	185
WILLIAM MARTIN Hydrothermalquellen und der Ursprung des Lebens	203
PETER WESTHOFF C4-Reis – Ein Turbolader für den Photosynthesemotor der Reispflanze	217
MICHAEL BOTT, STEPHANIE BRINGER-MEYER, MELANIE BROCKER, LOTHAR EGGELING, ROLAND FREUDL, JULIA FRUNZKE und TINO POLEN Systemische Mikrobiologie – Etablierung bakterieller Produktionsplattformen für die Weiße Biotechnologie	227
SUSANNE AILEEN FUNKE und DIETER WILLBOLD Frühdiagnose und Therapie der Alzheimerschen Demenz	243
ECKHARD LAMMERT Die Langerhanssche Insel und der Diabetes mellitus	251
THOMAS KLEIN Was kann man von der Fliegenborste lernen?	261
REINHARD PIETROWSKY und MELANIE SCHICHL Mittagsschlaf oder Entspannung fördern das Gedächtnis	275
PETER PROKSCH, SOFIA ORTLEPP und HORST WEBER Naturstoffe aus Schwämmen als Ideengeber für neue <i>Antifouling</i> -Wirkstoffe	281

STEPHAN RAUB, JENS ECKEL, REINHOLD EGGER und STEPHAN OLBRICH Fortschritte in der Forschung durch Hochleistungsrechnen – Kooperation von IT-Service, Informatik und Physik	291
---	-----

Philosophische Fakultät

<i>Dekanat</i>	305
<i>Neu berufene Professorinnen und Professoren</i>	307
HANS T. SIEPE (Dekan) Die Philosophische Fakultät im Spiegel der Publikationen ihrer Mitglieder	309
BRUNO BLECKMANN Römische Politik im Ersten Punischen Krieg	315
RICARDA BAUSCHKE-HARTUNG Minnesang zwischen Gesellschaftskunst und Selbstreflexion im Alter(n)sdiskurs – Walthers von der Vogelweide „Sumerlaten“-Lied	333
HENRIETTE HERWIG Altersliebe, Krankheit und Tod in Thomas Manns Novellen <i>Die Betrogene</i> und <i>Der Tod in Venedig</i>	345
ROGER LÜDEKE Die Gesellschaft der Literatur. Ästhetische Interaktion und soziale Praxis in Bram Stokers <i>Dracula</i>	361
SIMONE DIETZ Selbstdarstellungskultur in der massenmedialen Gesellschaft	383
MICHIKO MAE Integration durch „multikulturelle Koexistenz“, durch „Leitkultur“ oder durch eine „transkulturelle Partizipationsgesellschaft“?	393

Wirtschaftswissenschaftliche Fakultät

<i>Dekanat</i>	411
<i>Neu berufene Professorinnen und Professoren</i>	413
GUIDO FÖRSTER (Dekan) und DIRK SCHMIDTMANN Auswirkungen des Bilanzrechtsmodernisierungsgesetzes auf die steuerliche Gewinnermittlung	415
HEINZ-DIETER SMEETS Finanzkrise – Schrecken ohne Ende?	433
PETER LORSCHIED Praxisorientierte Besonderheiten der Statistik im Düsseldorfer Bachelorstudiengang „Betriebswirtschaftslehre“	457

Juristische Fakultät

<i>Dekanat</i>	467
----------------------	-----

DIRK LOOSCHELDERS (Dekan)

Neuregelung der Obliegenheiten des Versicherungsnehmers durch das Versicherungsvertragsgesetz 2008	469
---	-----

HORST SCHLEHOFFER

Die hypothetische Einwilligung – Rechtfertigungs- oder Strafunrechtsausschließungsgrund für einen ärztlichen Eingriff?	485
---	-----

ANDREW HAMMEL

Strategizing the Abolition of Capital Punishment in Three European Nations	497
---	-----

Partnerschaften der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**JIRÍ PEŠEK**

Die Partnerschaft zwischen der Karls-Universität Prag und der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf	513
--	-----

**Gesellschaft von Freunden und Förderern der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf e.V.****OTHMAR KALTHOFF**

Jahresbericht 2008	525
--------------------------	-----

GERT KAISER und OTHMAR KALTHOFF

Die wichtigsten Stiftungen der Freundesgesellschaft	527
---	-----

Forscherguppen an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**KLAUS PFEFFER**

Die Forschergruppe 729 „Anti-infektiöse Effektorprogramme: Signale und Mediatoren“	535
---	-----

PETER WERNET und GESINE KÖGLER

Die DFG-Forschergruppe 717 „Unrestricted Somatic Stem Cells from Human Umbilical Cord Blood (USSC)“/„Unrestringierte somatische Stammzellen aus menschlichem Nabelschnurblut“	545
---	-----

Beteiligungen an Forschergruppen**DIETER BIRNBACHER**

Kausalität von Unterlassungen – Dilemmata und offene Fragen	565
---	-----

Sofja Kovalevskaja-Preisträger**KARL SEBASTIAN LANG**

Das lymphozytäre Choriomeningitisvirus – Untersucht mittels eines Mausmodells für virusinduzierte Immunpathologie in der Leber	583
---	-----

Graduiertenausbildung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

- SONJA MEYER ZU BERSTENHORST, KARL-ERICH JAEGER und
JÖRG PIETRUSZKA
CLIB-Graduate Cluster Industrial Biotechnology:
Ein neuer Weg zur praxisnahen Doktorandenausbildung 597
- JOHANNES H. HEGEMANN und CHRISTIAN DUMPITAK
Strukturierte Promotionsförderung in der Infektionsforschung durch die
Manchot Graduiertenschule „Molecules of Infection“ 607

Nachwuchsforschergruppen an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

- ULRICH HEIMESHOF und HEINZ-DIETER SMEETS
Empirische Wettbewerbsanalyse 623
- WOLFGANG HOYER
Selektion und Charakterisierung von Bindeproteinen
für amyloidogene Peptide und Proteine 631

Interdisziplinäre Forscherverbünde an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

- ULRICH VON ALEMANN und ANNIKA LAUX
Parteimitglieder in Deutschland.
Die Deutsche Parteimitgliederstudie 2009 641
- JULIA BEE, REINHOLD GÖRLING und SVEN SEIBEL
Wiederkehr der Folter? Aus den Arbeiten einer interdisziplinären Studie
über eine extreme Form der Gewalt, ihre mediale Darstellung und ihre
Ächtung 649
- KLAUS-DIETER DRÜEN und GUIDO FÖRSTER
Düsseldorfer Zentrum für
Unternehmensbesteuerung und -nachfolge 663
- KLAUS-DIETER DRÜEN
Der Weg zur gemeinnützigen (rechtsfähigen) Stiftung –
Stiftungszivilrechtliche Gestaltungsmöglichkeiten
und steuerrechtliche Vorgaben 665
- GUIDO FÖRSTER
Steuerliche Rahmenbedingungen für Stiftungsmaßnahmen 677

Kooperation der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und des Forschungszentrums Jülich

- ULRICH SCHURR, UWE RASCHER und ACHIM WALTER
Quantitative Pflanzenwissenschaften – Dynamik von Pflanzen
in einer dynamischen Umwelt am Beispiel der Schlüsselprozesse
Photosynthese und Wachstum 691

Ausgründungen aus der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

DETLEV RIESNER und HANS SÜSSMUTH

Die Gründung des Wissenschaftsverlags *düsseldorf university press*
GmbH 709

Zentrale Einrichtungen der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Zentrale Universitätsverwaltung

JAN GERKEN

Der Umstieg auf das kaufmännische Rechnungswesen:
Die Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf nutzt als
Vorreiter die Chancen der Hochschulautonomie 729

Universitäts- und Landesbibliothek

IRMGARD SIEBERT

Sammelleidenschaft und Kulturförderung.
Die Schätze der Universitäts- und Landesbibliothek Düsseldorf 737

GABRIELE DREIS

Das Kulturgut Buch für die Zukunft bewahren:
Bestandserhaltung in der Universitäts- und Landesbibliothek Düsseldorf ... 751

Zentrum für Informations- und Medientechnologie

MANFRED HEYDTHAUSEN und ROBERT MONSER

Die Entwicklung eines Portals für
die Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf 769

STEPHAN RAUB, INGO BREUER, CHRISTOPH GIERLING und STEPHAN
OLBRICH

Werkzeuge für Monitoring und Management von Rechenclustern –
Anforderungen und Entwicklung des Tools <myJAM/> 783

Sammlungen in der Universitäts- und Landesbibliothek Düsseldorf

KATHRIN LUCHT-ROUSSEL

Die Düsseldorfer Malerschule in der
Universitäts- und Landesbibliothek Düsseldorf 795

Ausstellungen

ANDREA VON HÜLSEN-ESCH

Jüdische Künstler aus Osteuropa und die
westliche Moderne zu Beginn des 20. Jahrhunderts 813

JENS METZDORF und STEFAN ROHRBACHER

„Geschichte in Gesichtern“ 827

Geschichte der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

SVENJA WESTER und MAX PLASSMANN

Die Aufnahme des klinischen Unterrichts an der
Akademie für praktische Medizin im Jahr 1919 853

Forum Kunst

HANS KÖRNER

Frömmigkeit und Moderne.
Zu einem Schwerpunkt in Forschung und Lehre
am Seminar für Kunstgeschichte 865

Chronik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

ROLF WILLHARDT

Chronik 2008/2009 897

Campus-Orientierungsplan 919

Daten und Abbildungen aus dem

Zahlenspiegel der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf 925

Autorinnen und Autoren 937

**WOLFGANG JANNI, PHILIP HEPP und
DIETER NIEDERACHER**

**Der Nachweis von isolierten Tumorzellen
in Knochenmark und Blut von Patientinnen
mit primärem Mammakarzinom –
Standardisierte Methodik und klinische Relevanz**

Zusammenfassung

Trotz wesentlicher Fortschritte in der systemischen Therapie des Mammakarzinoms und deutlicher Prognoseverbesserung sind Rezidive nach oft langer Latenzzeit für diese Erkrankung charakteristisch. Ausgangspunkt für eine Fernmetastasierung sind in der Regel isolierte Tumorzellen, die bereits früh im Verlauf der Erkrankung hämatogen disseminieren. Der Nachweis dieser minimalen Tumorresiduen (*minimal residual disease*, MRD) ist mit konventionellen bildgebenden Verfahren nicht möglich. Der immunzytochemische Nachweis isolierter Tumorzellen im Knochenmark ist die am besten validierte Methode, um Tumorresiduen zu detektieren. Die daraus gewonnenen Informationen über Prävalenz und Phänotyp der Tumorzellen lassen Rückschlüsse auf Tumorbiologie und individuelle Prognose zu und könnten in Zukunft in der adjuvanten Situation zu einer Optimierung der Therapie führen. Vom Universitätsklinikum Düsseldorf aus geleitet wird die derzeit weltweit größte Therapieoptimierungsstudie beim Mammakarzinom mit Einsatz eines MRD-Screenings zur Therapieentscheidung (SUCCESS-C-Studie). Die Detektion von minimalen Tumorresiduen nach Abschluss der Primärtherapie könnte die Beantwortung der von Patientinnen häufig gestellten Frage nach dem individuellen Erfolg adjuvanter Therapien in Zukunft erleichtern und Grundlage für die Einleitung einer „sekundär-adjuvanten Therapie“ im Rahmen der onkologischen Nachsorge sein.

Einleitung

Die meisten Mammakarzinompatientinnen versterben nicht an ihrem Primärtumor, sondern an Fernmetastasen, die sich auch noch Jahre nach der Behandlung des Primärtumors ausbilden können. So kommt es beim Mammakarzinom selbst bei etwa einem Drittel der Patientinnen mit negativen Achsellymphknoten im weiteren Verlauf der Erkrankung zu lokalen oder Fernmetastasen, auch wenn zum Zeitpunkt der Erstdiagnose keine Hinweise für eine Ausbreitung jenseits der Brust vorlagen.¹ Metastasen werden vermutlich durch eine okkulte hämatogene Ausbreitung der Tumorzellen früh im Krankheitsverlauf verursacht. Mehrere Studien unterstützen die Hypothese, dass isolierte Tumorzellen (ITZ), also minimale Tumorresiduen (MRD) im Knochenmark oder anderen Kompartimenten, als Vorläu-

¹ Vgl. DeVita (1989) sowie Rosner und Lane (1993).

fer klinisch manifester Fernmetastasen betrachtet werden können.² Damit erlaubt der frühe Nachweis einer minimalen Resterkrankung im Knochenmark potenziell eine genauere Risikostratifikation für nachfolgende Therapieentscheidungen oder auch für die individuelle Zusammenstellung weiterer herkömmlicher oder zielgerichteter Therapien (*targeted therapies*), damit diese Zellen beseitigt werden, bevor sie sich zu manifesten Metastasen entwickeln können. Die vorliegende Übersichtsarbeit befasst sich mit der Methodik, Standardisierung und klinischen Relevanz eines MRD-Nachweises im Knochenmark von Patientinnen mit Mammakarzinom.

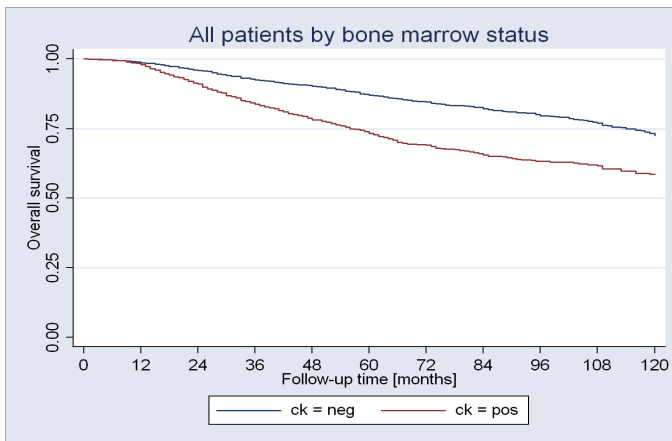


Abb. 1: Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom Nachweis isolierter Tumorzellen im Knochenmark von Brustkrebspatientinnen zum Zeitpunkt der Primärdiagnose: Daten einer globalen *Pooled Analysis* (vgl. Braun *et al.* 2005)

MRD-Nachweis im Knochenmark – Methodische Überlegungen

Die Familie der Zytokeratine (CK), die als Marker für disseminierte Karzinomzellen im Knochenmark, Blut und in Lymphknoten eingesetzt werden, besteht aus mehr als 20 Mitgliedern. Neuere Studien haben gezeigt, dass individuelle CK-Proteine in epithelialen Tumorzellen sehr heterogen exprimiert werden³ und „Breitband“-Antikörper oder Antikörper-„Cocktails“, die gegen mehrere CK-Proteine gleichzeitig gerichtet sind, in der diagnostischen Sensitivität monospezifischen Antikörpern überlegen sind. In unseren Studien haben wir den monoklonalen Antikörper A45-B/B3, der unter anderem gegen Heterodimere aus CK-8/18 und CK-8/19 gerichtet ist, eingesetzt.⁴ In umfangreichen Kontrollexperimenten an Knochenmarkproben von nahezu 200 Patienten ohne nachweisbares Karzinom konnten wir zeigen, dass normale Knochenmarkszellen in 99 Prozent der untersuchten Proben nicht

² Vgl. Braun *et al.* (2000b), Cote *et al.* (1991), Diel *et al.* (1996), Gebauer *et al.* (2001), Gerber *et al.* (2001), Harbeck *et al.* (1994), Landys *et al.* (1998) sowie Mansi *et al.* (1999).

³ Vgl. Woelfle *et al.* (2004).

⁴ Vgl. Braun *et al.* (2000b).

mit A45-B/B3 reagieren.⁵ Darüber hinaus konnte durch aufwändige molekulare Charakterisierungsmethoden bewiesen werden, dass es sich bei den meisten A45-B/B3-positiven Zellen im Knochenmark um Tumorzellen handelt.⁶

Neben dem immunzytochemischen Ansatz ist die RT-PCR (reverse Transkriptase-Polymerasekettenreaktion) das zweite in vielen Untersuchungen verwendete Verfahren, um einzelne disseminierte Tumorzellen mit einer ausreichenden Sensitivität nachzuweisen. Um die Spezifität dieser Methode zu überprüfen, wurde in vielen Laboratorien eine Reihe von Oligonukleotidpaaren für organspezifische mRNA-Spezies auf ihre ektope Expression in normalen Knochenmarkzellen geprüft. Diese Analysen zeigten, dass einige der als „tumorspezifisch“ publizierten mRNA-Spezies, wie zum Beispiel CEA, erbB2-Onkogen, prostataspezifisches Membran-Antigen, CK18 mRNA, durchaus in „normalen“ Knochenmarkzellen nachgewiesen werden können.⁷ Diese so genannte ektope (oder illegitime) Expression ist momentan eine der wesentlichen Limitationen beim Einsatz der hochempfindlichen RT-PCR-Methode zur Detektion einzelner, disseminierter Tumorzellen, da im Gegensatz zur immunozytologischen Methode keine morphologische Korrelation möglich ist. Ein Ausweg aus dieser Sackgasse könnte die Etablierung quantitativer RT-PCR-Verfahren sein, bei denen man einen so genannten *cut-off point* ermittelt, der eine Trennung zwischen der Expression in den Tumorzellen und der „normalen“ ektope Expression in den umgebenden hämatopoetischen Zellen ermöglichen soll. Darüber hinaus können hämatopoetische Zellen (zum Beispiel Granulozyten), die bei bestimmten PCR-Verfahren für das störende falsch-positive Signal verantwortlich sind, mit verbesserten Trennverfahren eliminiert werden. Eine im letzten Jahr publizierte Studie von griechischen Kollegen an 167 Patientinnen konnte sowohl eine signifikante Korrelation zwischen der Detektion von CK-19-mRNA-positiven Zellen im peripheren Blut mit dem rezidivfreien Überleben ($p < 0,00001$) als auch dem Gesamtüberleben ($p = 0,008$) demonstrieren.⁸

Für beide Nachweisverfahren gilt, dass für die Etablierung in der klinischen Praxis eine Reihe umfangreicher Kontrollen notwendig ist, auf die hier im Einzelnen nicht näher eingegangen werden soll. Eine Standardisierung der Verfahren verbunden mit einer Qualitätssicherung ist unbedingt notwendig. In den deutschsprachigen Ländern Europas wurde ein Konsensus unter der Schirmherrschaft der Deutschen Gesellschaft für Senologie unter dem Vorsitz von Professor Diethelm Wallwiener im Jahr 2005 erarbeitet, der im Folgenden näher erläutert werden soll.

Deutscher Konsensus zum Nachweis isolierter Tumorzellen im Knochenmark von Brustkrebspatientinnen

In dem von Fehm *et al.* im Jahr 2006 publizierten Konsensuspapier wurden die wesentlichen Eckpunkte der Qualitätssicherung zur Detektion isolierter Tumorzellen im Knochenmark in einem international beachteten Rahmen veröffentlicht und somit ein wesentlicher Schritt zur Standardisierung der Methode unternommen.⁹

⁵ Vgl. Braun *et al.* (2000b).

⁶ Vgl. Gangnus *et al.* (2004), Klein *et al.* (2002) sowie Schmidt-Kittler *et al.* (2003).

⁷ Vgl. Bostick *et al.* (1998) sowie Zippelius *et al.* (1997).

⁸ Vgl. Xenidis *et al.* (2006).

⁹ Vgl. Fehm *et al.* (2006).

Knochenmarkaufarbeitung

Zum Nachweis disseminierter Tumorzellen wird zunächst eine Anreicherung der mononukleären Zellschicht mittels Dichtegradientenzentrifugation durchgeführt. Zur Erhöhung der Nachweisrate kann gegebenenfalls eine positive oder negative immunmagnetische Separation angeschlossen werden, bei der entweder die Tumorzellen (positiv) angereichert oder die hämatopoetischen Zellen entfernt werden (negativ). Allerdings konnte für das KM bis dato keine Studie eindeutig zeigen, dass die immunmagnetische Separation zu einer Erhöhung der Positivitätsrate im Knochenmark führt. Aufgrund der höheren Kosten und der fehlenden Evidenz für eine Verbesserung der klinischen Aussagekraft ist die immunmagnetische Separation derzeit nicht für den Routinenachweis empfohlen.

Nach Anreicherung der mononukleären Zellschicht werden die Zellen gewaschen und ausgezählt. Um eine standardisierte Auswertung zu ermöglichen, sollte eine definierte Zellzahl auf den Objektträger aufgebracht werden. Eine Zellzahl von 0,5 bis $1,0 \times 10^6$ pro Objektträger ermöglicht eine adäquate Zelldichte für eine manuelle beziehungsweise automatische Auswertung. Zur Verbesserung der Zelladhäsion sollten Poly-Lysin-beschichtete Objektträger verwendet werden. Die optimalen Lagerungsbedingungen für ungefärbte Objektträger beziehungsweise Zytospins sind noch nicht ausreichend untersucht worden. Die meisten Arbeitsgruppen empfehlen, die Präparate bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ beziehungsweise $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ zu lagern. Falls die immunhistochemische Färbung innerhalb von 24 Stunden erfolgt, ist eine Lagerung der Objektträger bei Raumtemperatur oder $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ausreichend.

Fixierung der Knochenmarkpräparate

Bisher ist noch kein optimales Fixierungsprotokoll für Knochenmarkpräparate definiert worden. In der Regel werden die getrockneten Zytospins vor Beginn der immunhistochemischen Färbung fixiert. Im Folgenden sind einige Beispiele für eine Fixierung aufgeführt: 0,5 Prozent oder vier Prozent gepuffertes Formalin für zehn Minuten bei Raumtemperatur, oder Paraformaldehyd für fünf Minuten bei Raumtemperatur, Azeton für zehn Minuten bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ oder Raumtemperatur sowie eisgekühltes Methanol für fünf Minuten.

Immunzytochemische Färbung

Der Goldstandard zur Detektion von disseminierten Tumorzellen im Knochenmark und Blut von Mammakarzinompatientinnen ist derzeit der immunzytochemische Nachweis unter Verwendung der APAAP-Technik. Zum Blocken der endogenen alkalischen Phosphatase ist der Einsatz von Levamisol (2mM) empfohlen. Alternativ können Blockinglösungen, die in den entsprechenden kommerziell erhältlichen Färbekits enthalten sind, verwendet werden. In den meisten Studien werden zum Tumorzellnachweis Anti-Zytokeratinantikörper wie zum Beispiel A45-B/B3 oder AE1/AE3 eingesetzt (Tab. 1). Antikörper, die gegen epitheliale Membranantigene wie EpCAM (epitheliales Adhäsionsmolekül), HMFG (humanes Milhfettglobulin) oder TAG 12 (tumorassoziertes Glykoprotein) gerichtet sind, sollten nicht als alleiniger Detektionsantikörper verwendet werden, da die Sensitivität der Anti-Membranantigen-Antikörper im Vergleich zu den Anti-Zytokeratinantikörpern geringer ist. Allerdings lässt die derzeitige Datenlage noch keinen Schluss zu, welcher Zytokeratinantikörper für den Tumorzellnachweis im Knochenmark standardmäßig verwendet werden soll.

Publikation	Anzahl der Patientinnen	Detektrationsrate (in Prozent)	Marker	Material	Methode	prognostische Relevanz
Coombes <i>et al.</i> (1986)	269	23	E29	Aspirat	ICC	DFS
Schlimok <i>et al.</i> (1987)	155	18	CK18	Aspirat	ICC	DDFS
Porro <i>et al.</i> (1988)	159	16	Mbr1	Biopsie	ICC	–
Kirk <i>et al.</i> (1990)	25	48	LICR.LON.M8.4	Aspirat	ICC	–
Salvadori <i>et al.</i> (1990)	121	17	Mbr1	Biopsie	ICC	–
Mathieu <i>et al.</i> (1990)	93	1	KL1	Biopsie	ICC	–
Courtemanche <i>et al.</i> (1991)	50	8	LICR.LON.M8.4	Biopsie	ICC	–
Dearnaley <i>et al.</i> (1991)	37	33	EMA	Aspirat	ICC	DFS, OS
Singletery <i>et al.</i> (1991)	71	38	AE-1, AE-3, MAK 6, 113F1, 260F9, 317G5	Aspirat	ICC	–
Cote <i>et al.</i> (1991)	49	37	T16, C26, AE-1	Aspirat	ICC	DFS, OS
Harbeck <i>et al.</i> (1994)	100	38	E29, Moll, 12H12	Aspirat	ICC	DFS, OS*
Diel <i>et al.</i> (1996)	727	43	2E11	Aspirat	ICC	DFS, OS*
Funke <i>et al.</i> (1996)	234	38	CK18	Aspirat	ICC	n. d.
Molino <i>et al.</i> (1997)	109	38	Mbr1/8	Aspirat	ICC	–
Landys <i>et al.</i> (1998)	128	19	AE-1, AE-3	Biopsie	ICC	DFS, OS*
Untch <i>et al.</i> (1999)	581	28	CK18	Aspirat	ICC	–
Mansi <i>et al.</i> (1999)	350	25	E29	Aspirat	ICC	DFS, OS
Braun <i>et al.</i> (2000b)	552	36	A45-B/B3	Aspirat	ICC	DDFS, OS*
Gerber <i>et al.</i> (2001)	554	31	CK8, 18, 19	Aspirat	ICC	DFS, OS*
Gebauer <i>et al.</i> (2001)	393	42	CK/EMA	Aspirat	ICC	DFS*, OS
Datta <i>et al.</i> (1994)	34	26	CK19	Aspirat	RT-PCR	DFS
Fields <i>et al.</i> (1996)	83	71	CK19	Aspirat	RT-PCR	DFS
Vannucchi <i>et al.</i> (1998)	33	48	CK19	Biopsie	RT-PCR	DFS
Slade <i>et al.</i> (1999)	23	61	CK19	Aspirat	RT-PCR	–
Wiedswang <i>et al.</i> (2003)	817	13	AE-1, AE-3	Aspirat	ICC	DDFS, OS*
Braun <i>et al.</i> (2003), Braun <i>et al.</i> (2005)	4.703	31	A45-B/B3	Aspirat	ICC	OS*
Xenidis <i>et al.</i> (2006)	167	22	CK19	peripheres Blut	RT-PCR	DFS, OS

Tab. 1: Prognostische Relevanz des Nachweises isolierter Tumorzellen von Brustkrebspatientinnen. Abkürzungen: CK = Cytokeratin; DFS = rezidivfreies Überleben; DDFS = fernmetastasenfreies Überleben; ICC = Immunocytochemie; OS = Gesamtüberleben; RT-PCR = *reverse-transcriptase polymerase chain reaction*; n. d. = nicht durchgeführt. * prognostische Relevanz in multivariater Analyse

Qualitätskontrollen

Die Verwendung von geeigneten Qualitätskontrollen ist eine Grundvoraussetzung, um reproduzierbare und vergleichbare Ergebnisse zu erzielen. Aus diesem Grund sollten grundsätzlich negative und positive Färbekontrollen eingeschlossen werden. Als negative Kontrollen eignen sich zum einen Leukozyten gesunder Blutspender beziehungsweise von Patienten mit benignen Erkrankungen. Zum anderen sollten zusätzlich isotypidentische Antikörperkontrollen (IgG) mit einem nichtspezifischen Antikörper durchgeführt werden, um eine unspezifische Antikörperbindung auszuschließen. Als positive Färbekontrollen werden Zelllinien wie SKBR3, MCF-7 oder BT-20 verwendet. Bis dato nicht zwingend empfohlen, aber durchaus sinnvoll, ist zusätzlich die Durchführung von routinemäßigen

Spiking-Experimenten mit Zelllinien, zum Beispiel 1.000 SKBR3-Zellen per 10^6 Leukozyten, um die Sensitivität der Nachweismethode zu bestimmen und die Inter-Assay-Variabilität zu evaluieren. Falls zukünftig Multicenterstudien durchgeführt werden, müssen diese Qualitätskontrollen Pflicht werden. Darüber hinaus wird im Rahmen der Qualitätssicherung zusätzlich die Durchführung von Ringversuchen obligat werden.

Auswertung der Knochenmarkaspirate

Die Auswertung der Objektträger muss in der Regel geblindet und durch zwei unabhängige, zytologisch erfahrene Ärzte (alternativ Zytologieassistentin und Arzt) erfolgen. Insgesamt sollten 2×10^6 Zellen pro Patientin (entspricht zwei bis vier Zytospins, je nach aufgebrachter Zellzahl) ausgewertet werden. Analog werden auch bei den negativen n^{66} Kontrollen 2×10^6 Zellen analysiert. Die Auswertung kann auch automatisiert erfolgen. Hierzu werden die Objektträger durch ein automatisiertes Mikroskop mit Bildverarbeitungssystem voruntersucht und die gespeicherten „tumorzelltypischen Ereignisse“ vom Untersucher verifiziert. Die definitive Entscheidung wird somit weiterhin durch die Untersucher – idealerweise zwei – getroffen. Die automatisierte Auswertung bietet zahlreiche Vorteile: Zum einen wird der Zeitaufwand zum Durchmustern (Screening) der Objektträger deutlich reduziert. Zum anderen scheint die Sensitivität im Vergleich zur manuellen Auswertung höher zu sein. Darüber hinaus können die positiven Ereignisse einfach dokumentiert und deren Lokalisation gespeichert werden, so dass eine Zweitbefundung erleichtert wird.

Neben der immunhistochemischen Anfärbung sollten zusätzlich zytomorphologische Kriterien mit einbezogen werden, die den malignen Charakter der detektierten Zellen bestätigen. Die International Society for Cellular Therapy (ISCT) hat zu diesem Zweck Empfehlungen zur zytomorphologischen und immunhistochemischen Identifikation von disseminierten Tumorzellen herausgegeben (wie in Tab. 2 zusammengefasst). Die Kern-Konsensusempfehlungen sind in den Tabellen 3 und 4 zusammengefasst.

Prognostische Relevanz isolierter Tumorzellen zum Zeitpunkt der Primärdiagnose eines Mammakarzinoms

Mehr als tumorbiologische Fragen steht aus der klinischen Perspektive die prognostische Bedeutung von *Minimal Residual Disease* beim Mammakarzinom, vor allem im „wissenschaftlichen Wettstreit“ mit dem axillären Nodalstatus, im Vordergrund. Bei etwa einem Drittel nodalnegativer Patientinnen mit Mammakarzinom kommt es im weiteren Verlauf der Erkrankung zur Metastasierung, obwohl zum Zeitpunkt der Primärdiagnose keine Tumorzell dissemination in die axillären Lymphknoten nachgewiesen werden konnte.¹⁰ Diese Metastasierung wird vermutlich von einer frühzeitig in der Erkrankung auftretenden, okkulten hämatogenen Streuung von Tumorzellen verursacht. Die Ergebnisse mehrerer Studien unterstützen die Hypothese, dass die Disseminierung isolierter Tumorzellen ins Knochenmark eine Vorstufe auf dem Weg zur klinisch evidenten Metastasierung darstellt.¹¹ Diese Daten verweisen auf die potenzielle Möglichkeit, Patientinnen mit hohem

¹⁰ Vgl. DeVita (1989) sowie Rosner und Lane (1993).

¹¹ Vgl. Braun *et al.* (2000b), Cote *et al.* (1991), Diel *et al.* (1996), Gebauer *et al.* (2001), Gerber *et al.* (2001), Harbeck *et al.* (1994), Landys *et al.* (1998) sowie Mansi *et al.* (1999).

Zytomorphologie und Phänotyp disseminierter Tumorzellen

- vergrößerter Zellkern
- Verhältnis Zellkern/Zytoplasma < 1
- granulierter Zellkern (unregelmäßige Struktur des Zellkerns)
- große Nukleoli
- Zellcluster
- starkes und/oder unregelmäßig gefärbtes Zytoplasma
- immunzytologische Färbung bedeckt zumindest partiell Zellkern
- einzelne Zytokeratinfilamente sind erkennbar (netzartige Struktur)

Tab. 2: Zytomorphologische und phänotypische Merkmale disseminierter Tumorzellen unter Verwendung von Anti-Zytokeratinantikörper und der APAAP-Detektionmethode (vgl. Weckermann *et al.* 1999 sowie Mathieu *et al.* 1990)

1. Mindestens fünf bis zehn Milliliter Knochenmark sollten jeweils von zwei Seiten des vorderen oder hinteren Beckenkamms entnommen werden. Als Antikoagulans kann entweder Heparin (zwei Milliliter) oder EDTA (zwei Prozent w/v) verwendet werden.
2. Die Knochenmarkproben sollten innerhalb von 48 Stunden verarbeitet werden. Falls keine sofortige Verarbeitung des Knochenmarks möglich ist, sollte die Lagerungstemperatur zwischen 4 °C und 20 °C liegen.
3. Zur Anreicherung der mononukleären Zellschicht sollte eine Dichtegradientenzentrifugation mit Ficoll™ durchgeführt werden.
4. Falls die Objektträger beziehungsweise Zytospins innerhalb von 48 Stunden immunzytochemisch gefärbt werden, können diese bei 4 °C oder Raumtemperatur gelagert werden. Ansonsten sollte die Lagerungstemperatur der Objektträger –20 °C bis –80 °C betragen.
5. Für die Fixierung kann derzeit kein Standard definiert werden. Übliche Fixierungen sind gepuffertes Formalin (zehn Minuten, RT) oder Azeton (fünf Minuten oder zehn Minuten, 4 °C). Alternativ können die Objektträger mit p-Formaldehyd (fünf Minuten, RT) oder eisgekühltem Methanol fixiert werden.
6. Zum immunzytochemischen Nachweis disseminierter Tumorzellen sollten Anti-Zytokeratinantikörper, wie zum Beispiel A 45-B/B3 und AE 1/AE3, oder monoklonale Panzytokeratinantikörper mit validierter Spezifität verwendet werden. Als Detektionssystem sollte das APAAP-System eingesetzt werden.
7. Die endogene alkalische Phosphatase sollte mit Levamisol (oder mit einem kommerziell erhältlichen Blocking-Reagenz) geblockt werden.
8. Mammakarzinom-Zelllinien (zum Beispiel MCF-7 oder SKBR3) sowie Leukozyten gesunder Blutspender sollten als Positiv- beziehungsweise Negativkontrollen verwendet werden. Zusätzlich sollten isotypen-gematchte Kontrollen (IgG) als Negativkontrollen mitgeführt werden.
9. Sowohl für den Nachweis disseminierter Tumorzellen als auch für die negativen (isotypen-gematchten) Kontrollen müssen mindestens 2×10^6 Zellen gefärbt und von zwei unabhängigen Untersuchern geblindet ausgewertet werden.

Tab. 3: Empfehlung I: Richtlinien für den standardisierten Nachweis von disseminierten Tumorzellen im Knochenmark mittels Immunzytochemie

Positiv: Zytokeratinpositive/immunzytochemisch positive Zellen, Morphologie entsprechend einer disseminierten Tumorzelle (Anzahl der disseminierten Tumorzellen sollte dokumentiert werden.)

Negativ: Kein Nachweis von immunzytochemisch positiven Zellen oder nur Nachweis von immunzytochemisch positiven Zellen, jedoch zytomorphologisch nicht tumorzellartig, zum Beispiel hämatopoetische Zelle, squamöse (epidermale) Zellen

Tab. 4: Empfehlung II: Klassifizierung zytokeratinpositiver Zellen

Rezidivrisiko zum Zeitpunkt der Primärdiagnose durch Nachweis disseminierter Tumorzellen im Knochenmark zu identifizieren.

Eine ausreichende methodische Validierung liegt bisher hauptsächlich für die immunzytochemische Detektion mittels Zytokeratinantikörper vor, die an Bestandteile des epithelialen Zellskeletts binden.¹² Da epitheliale Zellen im Knochenmark natürlicherweise nicht vorkommen, ist Zytokeratin als Marker zum Nachweis von Tumorzellen geeignet, die von epithelialen Karzinomen wie dem Mammakarzinom gestreut wurden. Die Rate falsch-positiver Ergebnisse liegt dabei bei etwa einem Prozent.¹³ Durch eine zusätzliche morphologische Beurteilung kann der falsch-positive Befund hämatopoetischer Zellen weiter reduziert werden.¹⁴ Für diese Nachweismethode sprechen außerdem Studien, die an zytokeratinpositiven Zellen ähnliche phänotypische Eigenschaften beschreiben, wie sie für maligne Zellen solider Tumore charakteristisch sind, zum Beispiel die Expression von HER2/neu.¹⁵ Darüber hinaus belegen einige aktuelle Studien die maligne Natur isolierter Tumorzellen durch den Nachweis chromosomaler Aberrationen in diesen Zellen anhand von Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung und genomischer Einzelzellhybridisierung.¹⁶

Da der Nachweis isolierter Tumorzellen im Knochenmark nicht durchweg mit etablierten prognostischen Faktoren zum Zeitpunkt der Primärdiagnose korreliert, stellt er einen Parameter dar, der unabhängig von herkömmlichen klinischen und pathologischen Kriterien zusätzliche prognostische Informationen liefern kann. Während die meisten Studien eine prognostische Relevanz isolierter Tumorzellen belegen,¹⁷ ist auch eine Reihe von Arbeiten publiziert, die keinen Zusammenhang mit dem rezidivfreien oder Gesamtüberleben bestätigen konnten.¹⁸ Die meisten Studien, die keinen signifikanten Zusammenhang mit dem Überleben aufzeigen konnten, sind ältere Studien, in denen Knochenmarkbiopsien mit Hilfe von Glycolipidantikörpern oder Mucinantikörpern untersucht wurden. Zudem waren die Fallzahlen in diesen Studien häufig klein.¹⁹

Die Frage, ob der Knochenmarkbefall einen unabhängigen prognostischen Marker darstellt, wurde kürzlich durch die Daten der *Pooled Analysis* zusammenfassend geklärt.²⁰ Im Rahmen dieser Analyse wurden die Überlebensdaten von 4.703 Mammakarzinompatientinnen in den Stadien I bis III aus neun verschiedenen Zentren hinsichtlich des Knochenmarkstatus ausgewertet. Die Positivitätsrate im Knochenmark betrug insgesamt 31 Prozent. Der positive Knochenmarkstatus war ein unabhängiger prognostischer Marker für das Gesamtüberleben sowie das mammakarzinomspezifische Überleben. Mit dieser Arbeit

¹² Vgl. Braun und Pantel (1998) sowie Pantel *et al.* (1994).

¹³ Vgl. Braun *et al.* (2000b).

¹⁴ Vgl. Borgen *et al.* (2001) sowie Borgen *et al.* (1998).

¹⁵ Vgl. Pantel *et al.* (1993) sowie Putz *et al.* (1999).

¹⁶ Vgl. Klein *et al.* (2002), Schmidt-Kittler *et al.* (2003), Weckermann *et al.* (1999), Meng *et al.* (2004) sowie Solakoglu *et al.* (2002).

¹⁷ Vgl. Cote *et al.* (1991), Gebauer *et al.* (2001), Gerber *et al.* (2001), Harbeck *et al.* (1994), Landys *et al.* (1998), Mansi *et al.* (1999), Braun *et al.* (2003), Diel *et al.* (1998), Schlimok *et al.* (1987), Wiedswang *et al.* (2003), Fields *et al.* (1996), Datta *et al.* (1994) sowie Vannucchi *et al.* (1998).

¹⁸ Vgl. Cote *et al.* (1991), Courtemanche *et al.* (1991), Funke *et al.* (1996), Molino *et al.* (1997), Porro *et al.* (1988), Salvadori *et al.* (1990), Slade *et al.* (1999), Untch *et al.* (1999), Mathieu *et al.* (1990) sowie Singletary *et al.* (1991).

¹⁹ Vgl. Pantel *et al.* (2003).

²⁰ Vgl. Braun *et al.* (2005).

besteht für die prognostische Relevanz von isolierten Tumorzellen im Knochenmark nun ein *Level of Evidence I* nach Oxford; diese dürfte somit als gesichert gelten.

Der potenzielle Stellenwert nach der Primärtherapie

Während die prognostische Relevanz des Nachweises isolierter Tumorzellen im Knochenmark von Brustkrebspatientinnen zum Zeitpunkt der Primärdiagnose damit als gesichert gelten kann, wird die klinische Relevanz dieser Befunde durch das derzeit gebräuchliche Therapieverhalten in der Adjuvant deutlich limitiert. Nach dem noch aktuell gültigen Therapiestandard des Consensus Meeting von St. Gallen 2005 (und unverändert 2007) sowie den Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie (AGO) erhalten circa 80 Prozent der erstdiagnostizierten Brustkrebspatientinnen eine zytostatische und/oder endokrine Therapie im Rahmen der Primärbehandlung.²¹ Bei Patientinnen sollte aufgrund fehlender prospektiver Studien und möglicherweise mangelnder Sensitivität nach Meinung der Autoren die nach den Leitlinien vorgeschlagene Therapie bei fehlendem Nachweis isolierter Tumorzellen im Knochenmark *nicht* unterlassen werden. Ein tumorzellpositiver Knochenmarkbefund bietet hingegen aufgrund der vorliegenden Daten durchaus eine ausreichende Grundlage, die Indikation für eine adjuvante, vor allem endokrine Therapie zu stellen. Allerdings dürfte dieses Kollektiv aufgrund der niedrigen Prävalenz tumorzellpositiver Knochenmarkbefunde in den sehr frühen Tumorstadien unter fünf Prozent aller erstdiagnostizierten Brustkrebspatientinnen liegen.

Von wesentlich größerer Bedeutung könnte der Nachweis von persistierenden Tumorzellen nach Ende der Chemotherapie oder während der onkologischen Nachsorge, vor allem auch im Hinblick auf neuere zielgerichtete Therapien sein. Bereits im Jahr 2000 konnte in einer kleineren Studie an 59 Hochrisikopatientinnen gezeigt werden, dass Frauen mit Nachweis von isolierten Tumorzellen im Knochenmark direkt nach Beendigung der Chemotherapie eine signifikant schlechtere Überlebensprognose hatten als jene, die zu diesem Zeitpunkt einen negativen Knochenmarkbefund aufwiesen ($p = 0,011$).²²

Verschiedene Einzelstudien gingen, basierend auf diesen Daten, der Frage nach, ob persistierende Tumorzellen im Knochenmark von fernmetastasenfreien Brustkrebspatientinnen in der onkologischen Nachsorge eine prognostische Relevanz besitzen. Eine gemeinsame Analyse der Daten von 726 Patientinnen aus den Universitätsklinika Tübingen, München und Oslo bestätigte frühere unizentrische Ergebnisse: Das Gesamtüberleben unter den 15,4 Prozent der untersuchten Patientinnen mit Nachweis von persistierenden Tumorzellen im peripheren Blut unterschied sich um 62 Monate ($p < 0,0001$; Abb. 2).²³

Der Nachweis von persistierenden isolierten Tumorzellen im Knochenmark als Bestandteil der onkologischen Nachsorge könnte zukünftig als Surrogatmarker für die Notwendigkeit einer sekundär-adjuvanten Therapie dienen. In der vor kurzem erfolgreich in ihrer Rekrutierung beendeten SUCCESS-Studie wurde mit Hilfe eines immunzytochemischen Ansatzes (CellSearch, Veridex) die Wertigkeit persistierender Tumorzellen im peripheren Blut untersucht. Auf der Jahrestagung der American Society of Clinical Oncology (ASCO) 2008 konnten die ersten Ergebnisse des translationalen Forschungsprogramms

²¹ Vgl. Goldhirsch *et al.* (2005).

²² Vgl. Braun *et al.* (2000a).

²³ Vgl. Janni *et al.* (2006).

Breast Cancer Specific Overall Survival

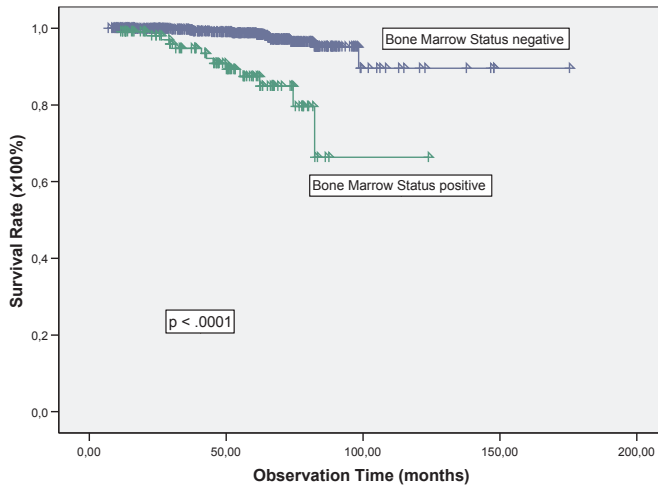


Abb. 2: Gesamtüberleben in Abhängigkeit persistierender Tumorzellen im Knochenmark im Intervall nach Operation: Daten einer europäischen *Pooled Analysis* (vgl. Janni *et al.* 2006)

der SUCCESS-Studie im Rahmen eines Vortrags präsentiert werden. Der Beitrag wurde außerdem mit dem ASCO Merit Award ausgezeichnet. Brigitte Rack berichtete über die Ergebnisse der Blutuntersuchungen von 1.500 Patientinnen vor Beginn der systemischen Therapie und nach Ende der Chemotherapie auf zirkulierende Tumorzellen (CTCs) im peripheren Blut. Während vor Therapiebeginn zehn Prozent der Patientinnen CTCs hatten, wurden nach der Therapie bei neun Prozent epitheliale Zellen gefunden. Von den klassischen Prognoseparametern korrelierte lediglich der Nachweis von Lymphknotenmetastasen mit einem positiven CTC-Status. Während bei einer medianen Nachbeobachtung von zwölf Monaten der Nachweis von CTCs vor Therapiebeginn keinen Einfluss auf die Prognose hatte, war der Nachweis persistierender zirkulierender Tumorzellen nach Chemotherapie sowohl mit einem verkürzten rezidivfreien ($p = 0,04$) als auch Gesamtüberleben ($p = 0,03$) assoziiert.

Mit der gleichen Methodik wurde auch im Rahmen der neoadjuvanten Studie Gepar-Quattro eine Begleituntersuchung zum Stellenwert des präoperativen Nachweises von Tumorzellen im Blut durchgeführt.

Vom Universitätsklinikum Düsseldorf aus geleitet wird die derzeit weltweit größte Therapieoptimierungsstudie beim Mammakarzinom mit Einsatz eines MRD-Screenings zur Therapieentscheidung (SUCCESS-C-Studie). Drei wichtige Fragestellungen stehen im Fokus: Es geht vordergründig um die Bedeutung einer anthrazyklinfreien Therapie für die Prognose dieser Patientinnen. Die Frage ist, ob auf den Einsatz von Anthrazyklinen und das damit einhergehende erhöhte kardiale Risiko verzichtet werden kann. Außerdem wird erstmals in Deutschland der Frage nachgegangen, ob eine so genannte Lifestyle-Intervention – Ernährungsumstellung, Fettreduktion, körperliche Aktivität – die Prognose

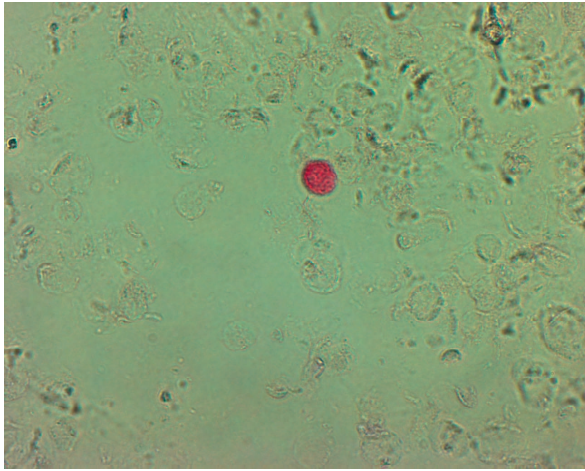


Abb. 3: Immunzytochemischer Nachweis einer isolierten Tumorzelle im Knochenmark mit dem Pancytokeratin-Antikörper A45-B/B3 (zahlreiche nicht angefärbte Knochenmarkszellen in der Umgebung sichtbar)

der Patientinnen verbessert. Die dritte Frage betrifft die beste adjuvante endokrine Therapiestrategie bei postmenopausalen Patientinnen mit hormonsensiblen Karzinom und noch vorhandenen (persistierenden) CTCs.

In die bundesweit laufende SUCCESS-C-Studie können Patientinnen mit HER2-negativem Mammakarzinom nach R0-Resektion und ohne Nachweis von Fernmetastasen (pT1-4, pN0-3, pM0) rekrutiert werden. Die Patientinnen werden zum Vergleich einer anthrazyklinhaltigen mit einer anthrazyklinfreien adjuvanten Chemotherapie in zwei Therapiearmen randomisiert. In beiden Therapiearmen erhalten die Patientinnen eine hochmoderne docetaxelhaltige Chemotherapie. Verglichen werden sechs Zyklen Docetaxel/Cyclophosphamid (TC; ohne Anthrazyklin) mit drei Zyklen FEC gefolgt von drei Zyklen Docetaxel (FEC-Doc). Primärer Endpunkt ist hierbei der Vergleich der erkrankungsfreien Überlebenszeit (DFS) der jeweiligen Therapieregime und die erkrankungsfreie Überlebenszeit mit und ohne Lifestyle-Intervention.

Da Anthrazykline mit einem erhöhten kardiotoxischen Risiko einhergehen, ließe sich bei vergleichbarer Wirksamkeit beider Regime auf das Anthrazyklin verzichten und die Toxizität der Behandlung ohne Wirksamkeitseinbuße reduzieren. Internationale Studiendaten weisen darauf hin, dass Patientinnen mit HER2-negativem Mammakarzinom keinen zusätzlichen Vorteil von einer anthrazyklinhaltigen adjuvanten Chemotherapie haben. So war das anthrazyklinfreie TC-Regime in einer US-amerikanischen Phase-III-Studie insgesamt der Kombination Doxorubicin/Cyclophosphamid (AC) statistisch signifikant überlegen. In der Subgruppe der HER2-negativen Patientinnen war ebenfalls ein Trend hinsichtlich der Überlegenheit der anthrazyklinfreien Kombination TC erkennbar.

Nach Beendigung der Chemotherapie besteht für Patientinnen mit erhöhtem Body-Mass-Index (BMI; 24 bis 40 Kilogramm pro Quadratmeter die Möglichkeit, eine zweijährige Diät mit körperlichem Trainingsprogramm anzuschließen. Die Patientinnen wer-

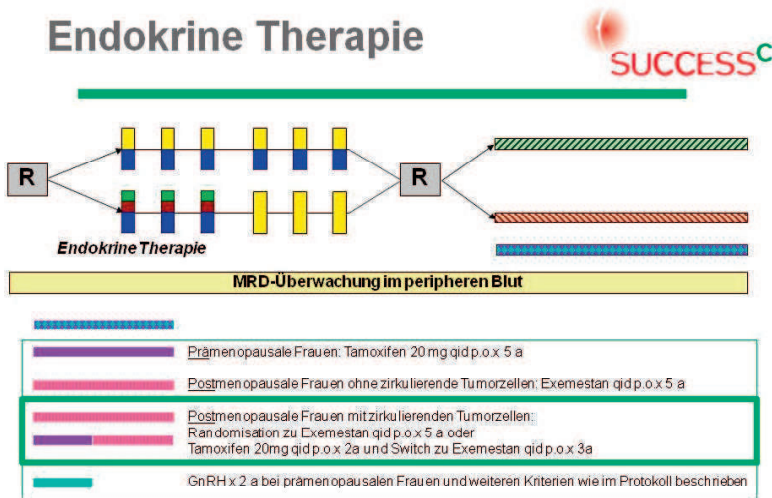


Abb. 4: Immunzytochemischer Nachweis von zirkulierenden Tumorzellen im peripheren Blut innerhalb der SUCCESS-C-Studie mit dem CellSearch System (Veridex Inc.)

den erneut randomisiert – in eine Kontrollgruppe und in eine, die von einem persönlichen Lifestyle-Coach betreut wird, der sie bei der Umstellung ihrer Lebensgewohnheiten und der Gewichtsreduktion unterstützt. Damit bietet die Studie den Patientinnen die Möglichkeit, ihre Prognose unabhängig von einer Medikation und möglichen Nebenwirkungen zu verbessern. Ausgangspunkt für diesen Ansatz waren die Ergebnisse einer großen US-amerikanischen Interventionsstudie bei Brustkrebspatientinnen, wonach eine Reduktion der Fettzufuhr die rezidivfreie Zeit statistisch signifikant verlängert.

Außerdem ist die SUCCESS-C-Studie weltweit die erste Studie zur endokrinen Intervention auf der Grundlage moderner CTC-Technologie: Zur Beantwortung der Frage nach der besten adjuvanten endokrinen Therapiestrategie für postmenopausale Patientinnen mit HER2-negativem und hormonrezeptorpositivem Mammakarzinom, bei denen nach abgeschlossener Chemotherapie CTCs im peripheren Blut nachweisbar sind, erhalten die Patientinnen über fünf Jahre alternativ eine Upfront-Therapie mit dem Aromatasehemmer Exemestan oder eine Sequenz mit Tamoxifen gefolgt von Exemestan. Endpunkt ist der CTC-Nachweis als früher Marker für ein Therapiemonitoring.

Fazit

Level-I-Evidenz belegt, dass der positive Knochenmarkstatus eindeutig als unabhängiger prognostischer Marker beim Mammakarzinom gewertet werden kann. Derzeit ist der Stellenwert des Nachweises von isolierten Tumorzellen im Knochenmark zum Zeitpunkt der Primärdiagnose jedoch durch den hohen Anteil systemtherapierter Patientinnen limitiert. Der Nachweis von zirkulierenden Tumorzellen im peripheren Blut ist beim primären Mammakarzinom hingegen noch nicht evidenzbasiert und Gegenstand zahlreicher Studien.

Der Hauptvorteil des Nachweises minimaler Tumorresiduen liegt in der Möglichkeit serieller Bestimmungen im Laufe der Erkrankung oder auch im Rahmen der onkologischen Nachsorge. Persistierende isolierte Tumorzellen könnten in Zukunft ein interessantes Target sekundär-adjuvanter Therapien darstellen, um die Heilungschancen von Patientinnen mit primären Mammakarzinom zu verbessern.

Literatur

- BORGEN, E., K. BEISKE, S. TRACHSEL, J. M. NESLAND, G. KVALHEIM, T. K. HERSTAD, E. SCHLICHTING, H. QVIST und B. NAUME (1998). „Immunocytochemical detection of isolated epithelial cells in bone marrow: non-specific staining and contribution by plasma cells directly reactive to alkaline phosphatase“, *Journal of Pathology* 185, 427–434.
- BORGEN, E., B. NAUME, J. M. NESLAND, K. W. NOWELS, N. PAVLAK, I. RAVKIN und S. GOLDBARD (2001). „Use of automated microscopy for the detection of disseminated tumor cells in bone marrow samples“, *Cytometry* 46, 215–221.
- BOSTICK, P. J., S. CHATTERJEE, D. D. CHI, K. T. HUYNH, A. E. GIULIANO, R. COTE und D. S. HOON (1998). „Limitations of specific reverse-transcriptase polymerase chain reaction markers in the detection of metastases in the lymph nodes and blood of breast cancer patients“, *Journal of Clinical Oncology* 16, 2632–2640.
- BRAUN, S. und K. PANTEL (1998). „Prognostic significance of micrometastatic bone marrow involvement“, *Breast Cancer Research and Treatment* 52, 201–216.
- BRAUN, S., C. KENTENICH, W. JANNI, F. HEPP, J. DE WAAL, F. WILLGEROTH, H. SOMMER und K. PANTEL (2000a). „Lack of effect of adjuvant chemotherapy on the elimination of single dormant tumor cells in bone marrow of high-risk breast cancer patients“, *Journal of Clinical Oncology* 18, 80–86.
- BRAUN, S., K. PANTEL, P. MULLER, W. JANNI, F. HEPP, C. R. KENTENICH, S. GASTROPH, A. WISCHNIK, T. DIMPFL, G. KINDERMANN, G. RIETHMULLER und G. SCHLIMOK (2000b). „Cytokeratin-positive cells in the bone marrow and survival of patients with stage I, II, or III breast cancer“, *New England Journal of Medicine* 342, 525–533.
- BRAUN, S., F. VOGL, G. SCHLIMOK, I. DIEHL, W. JANNI, B. GERBER, G. GEBAUER, R. C. COOMBES, J.-Y. PIERGA, B. NAUME, K. PANTEL (2003). „Pooled analysis of prognostic impact of bone marrow micrometastases: 10 year survival 4199 breast cancer patients“, *Breast Cancer Research and Treatment* 67, 85–91.
- BRAUN, S., F. D. VOGL, B. NAUME, W. JANNI, M. P. OSBORNE, R. C. COOMBES, G. SCHLIMOK, I. J. DIEHL, B. GERBER, G. GEBAUER, J. Y. PIERGA, C. MARTH, D. ORUZIO, G. WIEDSWANG, E. F. SOLOMAYER, G. KUNDT, B. STROBL, T. FEHM, G. Y. WONG, J. BLISS, A. VINCENT-SALOMON und K. PANTEL (2005). „A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer“, *New England Journal of Medicine* 353, 793–802.
- COOMBES, R. C., U. BERGER, J. MANSI, H. REDDING, T. J. POWLES, A. M. NEVILLE, A. MCKINNA, A. G. NASH, J. C. GAZET, H. T. FORD *et al.* (1986). „Prognostic significance of micrometastases in bone marrow in patients with primary breast cancer“, *National Cancer Institute Monography*, 51–53.
- COTE, R. J., P. P. ROSEN, M. L. LESSER, L. J. OLD und M. P. OSBORNE (1991). „Prediction of early relapse in patients with operable breast cancer by detection of occult bone marrow micrometastases“, *Journal of Clinical Oncology* 9, 1749–1756.
- COURTEMANCHE, D. J., A. J. WORTH, R. W. COUPLAND und J. K. MACFARLANE (1991). „Detection of micrometastases from primary breast cancer“, *Canadian Journal of Surgery* 34, 15–19.

- DATTA, Y. H., P. T. ADAMS, W. R. DROBYSKI, S. P. ETHIER, V. H. TERRY und M. S. ROTH (1994). „Sensitive detection of occult breast cancer by the reverse-transcriptase polymerase chain reaction“, *Journal of Clinical Oncology* 12, 475–482.
- DEARNALEY, D. P., M. G. ORMEROD und J. P. SLOANE (1991). „Micrometastases in breast cancer: long-term follow-up of the first patient cohort“, *European Journal of Cancer* 27, 236–239.
- DEVITA, V. T. J. (1989). „Breast cancer therapy: exercising all our options“, *New England Journal of Medicine* 320, 527–529.
- DIEL, I. J., M. KAUFMANN, S. D. COSTA, R. HOLLE, G. von MINCKWITZ, E. F. SOLOMAYER, S. KAUL und G. BASTERT (1996). „Micrometastatic breast cancer cells in bone marrow at primary surgery: prognostic value in comparison with nodal status“, *Journal of National Cancer Institute* 88, 1652–1658.
- DIEL, I. J., E. F. SOLOMAYER, S. D. COSTA, C. GOLLAN, R. GOERNER, D. WALLWIENER, M. KAUFMANN und G. BASTERT (1998). „Reduction in new metastases in breast cancer with adjuvant clodronate treatment“, *New England Journal of Medicine* 339, 357–363.
- FEHM, T., S. BRAUN, V. MULLER, W. JANNI, G. GEBAUER, C. MARTH, C. SCHINDLBECK, D. WALLWIENER, E. BORGEN, B. NAUME, K. PANTEL und E. SOLOMAYER (2006). „A concept for the standardized detection of disseminated tumor cells in bone marrow from patients with primary breast cancer and its clinical implementation“, *Cancer* 107, 885–892.
- FIELDS, K. K., G. J. ELFFENBEIN, W. L. TRUDEAU, J. B. PERKINS, W. E. JANSSEN und L. C. MOSCINSKI (1996). „Clinical significance of bone marrow metastases as detected using the polymerase chain reaction in patients with breast cancer undergoing high-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation“, *Journal of Clinical Oncology* 14, 1868–1876.
- FUNKE, I., S. FRIES, M. ROLLE, M. M. HEISS, M. UNTCH, H. BOHMERT, F. W. SCHILDBERG und K. W. JAUCH (1996). „Comparative analyses of bone marrow micrometastases in breast and gastric cancer“, *International Journal of Cancer* 65, 755–761.
- GANGNUS, R., S. LANGER, E. BREIT, K. PANTEL und M. R. SPEICHER (2004). „Genomic profiling of viable and proliferative micrometastatic cells from early-stage breast cancer patients“, *Clinical Cancer Research* 10, 3457–3464.
- GEBAUER, G., T. FEHM, E. MERKLE, E. P. BECK, N. LANG und W. JAGER (2001). „Epithelial cells in bone marrow of breast cancer patients at time of primary surgery: clinical outcome during long-term follow-up“, *Journal of Clinical Oncology* 19, 3669–3674.
- GERBER, B., A. KRAUSE, H. MULLER, D. RICHTER, T. REIMER, J. MAKOVITZKY, C. HERRNRING, U. JESCHKE, G. KUNDT und K. FRIESE (2001). „Simultaneous immunohistochemical detection of tumor cells in lymph nodes and bone marrow aspirates in breast cancer and its correlation with other prognostic factors“, *Journal of Clinical Oncology* 19, 960–971.
- GOLDHIRSCH, A., J. H. GLICK, R. D. GELBER, A. S. COATES, B. THURLIMANN und H. J. SENN (2005). „Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005“, *Annals of Oncology* 16, 1569–1583.
- HARBECK, N., M. UNTCH, L. PACHE und W. EIERMANN (1994). „Tumour cell detection in the bone marrow of breast cancer patients at primary therapy: results of a 3-year median follow-up“, *British Journal of Cancer* 69, 566–571.
- JANNI, W., G. WIEDSWANG, T. FEHM, J. JÜCKSTOCK, E. BORGEN, B. RACK, S. BRAUN, H. SOMMER, E. F. SOLOMAYER, K. PANTEL, J. M. NESLAND, K. FRIESE und B. NAUME (2006). „Persistence of disseminated tumor cells (DTC) in bone marrow (BM) during Follow-up predicts increased risk for relapse – Up-date of the pooled European data“, *Breast Cancer Research and Treatment* 70, 1124–1129.
- KIRK, S. J., G. G. COOPER, M. HOPER, P. C. WATT, A. D. ROY und W. ODLING-SMEE (1990). „The prognostic significance of marrow micrometastases in women with early breast cancer“, *European Journal of Surgery Oncology* 16, 481–485.

- KLEIN, C. A., T. J. BLANKENSTEIN, O. SCHMIDT-KITTLER, M. PETRONIO, B. POLZER, N. H. STOECKLEIN und G. RIETHMULLER (2002). „Genetic heterogeneity of single disseminated tumour cells in minimal residual cancer“, *Lancet* 360, 683–689.
- LANDYS, K., S. PERSSON, J. KOVARIK, R. HULTBORN und E. HOLMBERG (1998). „Prognostic value of bone marrow biopsy in operable breast cancer patients at the time of initial diagnosis: Results of a 20-year median follow-up“, *Breast Cancer Research and Treatment* 49, 27–33.
- MANSI, J. L., H. GOGAS, J. M. BLISS, J. C. GAZET, U. BERGER und R. C. COOMBES (1999). „Outcome of primary-breast-cancer patients with micrometastases: a long-term follow-up study“, *Lancet* 354, 197–202.
- MATHIEU, M. C., S. FRIEDMAN, J. BOSQ, B. CAILLOU, M. SPIELMANN, J. P. TRAVAGLI und G. CONTESSO (1990). „Immunohistochemical staining of bone marrow biopsies for detection of occult metastasis in breast cancer“, *Breast Cancer Research and Treatment* 15, 21–26.
- MENG, S., D. TRIPATHY, S. SHETE, R. ASHFAQ, B. HALEY, S. PERKINS, P. BEITSCH, A. KHAN, D. EUHUS, C. OSBORNE, E. FRENKEL, S. HOOVER, M. LEITCH, E. CLIFFORD, E. VITETTA, L. MORRISON, D. HERLYN, L. W. TERSTAPPEN, T. FLEMING, T. FEHM, T. TUCKER, N. LANE, J. WANG und J. UHR (2004). „HER-2 gene amplification can be acquired as breast cancer progresses“, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 9393–9398.
- MOLINO, A., G. PELOSI, M. TURAZZA, L. SPEROTTO, A. BONETTI, R. NORTILLI, G. FATTOVICH, C. ALAIMO, Q. PIUBELLO, F. PAVANEL, R. MICCIOLO und G. L. CETTO (1997). „Bone marrow micrometastases in 109 breast cancer patients: correlations with clinical and pathological features and prognosis“, *Breast Cancer Research and Treatment* 42, 23–30.
- PANTEL, K., G. SCHLIMOK, S. BRAUN, D. KUTTER, F. LINDEMANN, G. SCHALLER, I. FUNKE, J. R. IZBICKI und G. RIETHMULLER (1993). „Differential expression of proliferation-associated molecules in individual micrometastatic carcinoma cells“, *Journal of National Cancer Institute* 85, 1419–1424.
- PANTEL, K., E. FELBER und G. SCHLIMOK (1994). „Detection and characterization of residual disease in breast cancer“, *Journal of Hematotherapy* 3, 315–322.
- PANTEL, K., V. MULLER, M. AUER, N. NUSSER, N. HARBECK und S. BRAUN (2003). „Detection and clinical implications of early systemic tumor cell dissemination in breast cancer“, *Clinical Cancer Research* 9, 6326–6334.
- PORRO, G., S. MENARD, E. TAGLIABUE, S. OREFICE, B. SALVADORI, P. SQUICCIARINI, S. ANDREOLA, F. RILKE und M. I. COLNAGHI (1988). „Monoclonal antibody detection of carcinoma cells in bone marrow biopsy specimens from breast cancer patients“, *Cancer* 61, 2407–2411.
- PUTZ, E., K. WITTER, S. OFFNER, P. STOSIEK, A. ZIPPELIUS, J. JOHNSON, R. ZAHN, G. RIETHMULLER und K. PANTEL (1999). „Phenotypic characteristics of cell lines derived from disseminated cancer cells in bone marrow of patients with solid epithelial tumors: establishment of working models for human micrometastases“, *Cancer Research* 59, 241–248.
- ROSNER, D. und W. W. LANE (1993). „Predicting recurrence in axillary-node negative breast cancer patients“, *Breast Cancer Research and Treatment* 25, 127–139.
- SALVADORI, B., P. SQUICCIARINI, D. ROVINI, S. OREFICE, S. ANDREOLA, F. RILKE, L. BARLETTA, S. MENARD und M. I. COLNAGHI (1990). „Use of monoclonal antibody MBr1 to detect micrometastases in bone marrow specimens of breast cancer patients“, *European Journal of Cancer* 26, 865–867.
- SCHLIMOK, G., I. FUNKE, B. HOLZMANN, G. GOTTLINGER, G. SCHMIDT, H. HAUSER, S. SWIERKOT, H. H. WARNECKE, B. SCHNEIDER, H. KOPROWSKI *et al.* (1987). „Micrometastatic cancer cells in bone marrow: in vitro detection with anti-cytokeratin and in vivo labeling with anti-17-1A monoclonal antibodies“, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 84, 8672–8676.

- SCHMIDT-KITTLER, O., T. RAGG, A. DASKALAKIS, M. GRANZOW, A. AHR, T. J. BLANKENSTEIN, M. KAUFMANN, J. DIEBOLD, H. ARNHOLDT, P. MULLER, J. BISCHOFF, D. HARICH, G. SCHLIMOK, G. RIETHMULLER, R. EILS und C. A. KLEIN (2003). „From latent disseminated cells to overt metastasis: genetic analysis of systemic breast cancer progression“, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, 7737–7742.
- SINGLETARY, S. E., L. LARRY, S. L. TUCKER und G. SPITZER (1991). „Detection of micrometastatic tumor cells in bone marrow of breast carcinoma patients“, *Journal of Surgery Oncology* 47, 32–36.
- SLADE, M. J., B. M. SMITH, H. D. SINNETT, N. C. CROSS und R. C. COOMBES (1999). „Quantitative polymerase chain reaction for the detection of micrometastases in patients with breast cancer“, *Journal of Clinical Oncology* 17, 870–879.
- SOLAKOGLU, O., C. MAIERHOFER, G. LAHR, E. BREIT, P. SCHEUNEMANN, I. HEUMOS, U. PICHLMEIER, G. SCHLIMOK, R. OBERNEDER, M. W. KOLLERMANN, J. KOLLERMANN, M. R. SPEICHER und K. PANTEL (2002). „Heterogeneous proliferative potential of occult metastatic cells in bone marrow of patients with solid epithelial tumors“, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99, 2246–2251.
- UNTCH, M., S. KAHLERT, I. FUNKE, B. BOETTCHER, G. KONECNY, C. NESTLE-KRAEMLING und I. BAUERNFEIND (1999). „Detection of Cytokeratin (CK) 18 Positive Cells in the Bone Marrow (BM) of Breast Cancer Patients – No Prediction of Bad Outcome“, *Proceedings of the Annual Meetings of the American Cancer Society of Clinical Oncology* 18, 693a.
- VANNUCCHI, A. M., A. BOSI, S. GLINZ, P. PACINI, S. LINARI, R. SACCARDI, R. ALTERINI, L. RIGACCI, S. GUIDI, L. LOMBARDINI, G. LONGO, M. P. MARIANI und P. ROSSI-FERRINI (1998). „Evaluation of breast tumour cell contamination in the bone marrow and leukapheresis collections by RT-PCR for cytokeratin-19 mRNA“, *British Journal of Haematology* 103, 610–617.
- WECKERMANN, D., P. MULLER, F. WAWROSCHEK, G. KRAWCZAK, G. RIETHMULLER und G. SCHLIMOK (1999). „Micrometastases of bone marrow in localized prostate cancer: correlation with established risk factors“, *Journal of Clinical Oncology* 17, 3438–3443.
- WIEDSWANG, G., E. BORGES, R. KARESEN, G. KVALHEIM, J. M. NESLAND, H. QVIST, E. SCHLICHTING, T. SAUER, J. JANBU, T. HARBITZ und B. NAUME (2003). „Detection of isolated tumor cells in bone marrow is an independent prognostic factor in breast cancer“, *Journal of Clinical Oncology* 21, 3469–3478.
- WOELFLE, U., G. SAUTER, S. SANTIER, R. BRAKENHOFF und K. PANTEL (2004). „Down-regulated expression of cytokeratin 18 promotes progression of human breast cancer“, *Clinical Cancer Research* 10, 2670–2674.
- XENIDIS, N., M. PERRAKI, M. KAFOUSI, S. APOSTOLAKI, I. BOLONAKI, A. STATHOPOULOU, K. KALBAKIS, N. ANDROULAKIS, C. KOUROUSSIS, T. PALLIS, C. CHRISTOPHYLAKIS, K. ARGYRAKI, E. S. LIANIDOU, S. STATHOPOULOS, V. GEORGIOULIAS und D. MAVROUDIS (2006). „Predictive and prognostic value of peripheral blood cytokeratin-19 mRNA-positive cells detected by real-time polymerase chain reaction in node-negative breast cancer patients“, *Journal of Clinical Oncology* 24, 3756–3762.
- ZIPPELIUS, A., P. KUFER, G. HONOLD, M. W. KOLLERMANN, R. OBERNEDER, G. SCHLIMOK, G. RIETHMULLER und K. PANTEL (1997). „Limitations of reverse-transcriptase polymerase chain reaction analyses for detection of micrometastatic epithelial cancer cells in bone marrow“, *Journal of Clinical Oncology* 15, 2701–2708.

ISBN 978-3-940671-33-2



9 783940 671332