

6 Zusammenfassung

Untersuchungen des Expressionsprofils der Cyclin-abhängigen Cyclinkinase-Inhibitoren p21^{CIP1/WAF1} und p27^{KIP1} in spontanen Mammatumoren beim Hund

Im Rahmen der Karzinogenese von epithelialen Tumoren kommt dem Zellzyklus und dessen Kontrolle entscheidende Bedeutung zu. Die verschiedenen Regulatoren sind verantwortlich für den kontrollierten Ablauf des Zellzyklus, aus dem letztlich eine fehlerfreie Verdoppelung der DNA resultieren soll. Humanmedizinische Forschungsarbeiten belegen die besondere Bedeutung des Expressionsprofils der Cyclin-abhängigen Cyclinkinase-Inhibitoren (CKIs) p21 und p27 im Rahmen der Karzinogenese von humanen Mammatumoren. Diese beiden CKIs wurden in veterinärmedizinischen Studien bei Caniden bislang nur unzureichend und vorwiegend auf Proteinebene untersucht. Ziel dieser Arbeit war es somit, einen Einblick in die Expressionsprofile von p21 und p27 auf molekularer Ebene sowie auf Proteinebene zu erhalten.

Vor den quantitativen Untersuchungen von p21 und p27 in caninen Mammatumoren sollte zunächst die bei humanen Mammatumoren beschriebene Regulation der beiden CKIs auch bei der Spezies Hund bestätigt werden. Aus diesem Grund wurde zur Bestimmung differentieller Genexpression eine Affymetrixchip-Analyse an Proben von Mammakarzinomen der Spezies Hund (einfache, solide Karzinome) durchgeführt. Die Ergebnisse der Analyse zeigten eine Überexpression für p21 und eine verminderte Expression für p27 in den untersuchten Mammakarzinomen im Vergleich zu neoplastisch unverändertem Mammagewebe des gleichen Individuums. Die Veränderungen des Expressionsprofils von p21 und p27 ließen auf eine möglicherweise bedeutende Rolle dieser beiden CKIs auch im Rahmen der Karzinogenese caniner Mammatumoren schließen.

Zur Validierung dieser Ergebnisse wurden im Anschluss an die Affymetrixchip-Analyse 25 Proben caniner Mammakarzinome und korrespondierende Proben von neoplastisch unverändertem Mammagewebe des gleichen Individuums *intra operationem* entnommen, histologisch klassifiziert und mittels real-time PCR quantitativ analysiert.

p21 zeigte im Mittel eine 1,38-fache Expression in den untersuchten Mammakarzinomen im Vergleich zum korrespondierenden neoplastisch unveränderten Mammagewebe, was bedeutet, dass keine zuverlässige Aussage über eine Genregulation möglich ist.

Für p27 lag die relative Expression in den Mammatumoren im Mittel beim 0,77-fachen der Expression, die im korrespondierenden neoplastisch unveränderten Mammagewebe des gleichen Individuums ermittelt wurde. Somit ist für beide Cyclin-abhängigen Cyclinkinase-Inhibitoren keine zuverlässige Aussage bezüglich einer Genregulation auf Transkriptionsebene möglich. Es zeigen sich hierfür allenfalls Tendenzen. Für p21 liegt tendenziell eine erhöhte und für p27 eine verminderte Genexpression in caninen Mammakarzinomen im Vergleich zu neoplastisch unverändertem Mammagewebe des gleichen Individuums vor.

Im Anschluss an die Untersuchungen auf Transkriptionsebene wurde repräsentativ ein immunhistologischer Nachweis der beiden Kandidatengene durchgeführt, um eine semiquantitative Beurteilung der exprimierten p21- und p27-Proteinmengen zu ermöglichen.

Für p21 zeigte sich im Tumorgewebe semiquantitativ eine deutlich erhöhte Proteinmenge im Vergleich zu neoplastisch unverändertem Mammagewebe, im Falle von p27 hingegen lag eine geringere Proteinexpression in den Mammatumoren im Vergleich zum korrespondierenden neoplastisch unveränderten Mammagewebe vor. Die Ergebnisse der Untersuchungen auf Proteinebene und Transkriptionsebene zeigen somit erhebliche Differenzen. Diese deuten auf eine mögliche posttranskriptionelle Regulation der beiden Cyclin-abhängigen Cyclinkinase-Inhibitoren hin. Sollten sich die semiquantitativen Ergebnisse der Untersuchungen auf Proteinebene auch durch quantitative Untersuchungen bestätigen lassen, existieren mit hoher Wahrscheinlichkeit posttranskriptionelle Mechanismen, die zur Regulation der Proteinexpression von p21 und p27 beitragen, die in Folgestudien genauer zu untersuchen wären.