

## 6 Zusammenfassung

Die differenzielle Genexpression als Folge der molekularen Alteration in Karzinomen spielt eine entscheidende Rolle für das Verständnis der Tumorbiologie und bildet die Grundlage für die Entdeckung neuer diagnostischer Biomarker und therapeutischer Zielgene. Die Chiparray Technologie, welche die simultane Expressionsanalyse tausender Gene in einem Versuch ermöglicht, fand bereits zur Identifikation differenziell exprimierter Gene für verschiedene Tumorentitäten erfolgreich Anwendung.

Ziel dieser Arbeit war die Identifikation von differenziell exprimierten Genen und ESTs (DES) beim kolorektalen Karzinom durch die vergleichende Analyse Chiparray basierter Genexpressionsdaten von korrespondierenden Normal- und Tumorgewebe nach Laser gestützter Mikrodisektion. Zudem wurde die Homogenität der Expression der identifizierten DES innerhalb des Tumorgewebes untersucht, indem definierte Tumorareale, nämlich die an das Normalgewebe grenzende Tumordinvasionsfront sowie zentrale Tumorregionen, mittels Laser gestützter Mikrodisektion getrennt voneinander aufgearbeitet wurden. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit bestand darin, unter Verwendung der Clusteranalyse zu untersuchen, inwiefern die kolorektalen Tumor- und Normalgewebe anhand der Genexpressionsdaten nach histopathologischen Kriterien klassifiziert werden konnten.

Die in dieser Arbeit verwendeten GeneChips (HG-U133) von Affymetrix ermöglichten es, die Expression von etwa 33.000 bekannten Genen in den kolorektalen Tumor- und Normalgeweben von 25 Patienten zu messen. Für sämtliche detektierte Sequenzen ist gemäß eines heuristischen Verfahrens eine Rangfolge berechnet worden, anhand derer mittels eines arbiträr gewählten „cut-offs“ 200 DES identifiziert wurden, die in den untersuchten kolorektalen Karzinomgeweben überexprimiert waren, sowie 200 weitere, die unterexprimiert waren.

Unter den identifizierten DES fanden sich 42 Gene, die bereits aus der Literatur als im kolorektalen Karzinom differenziell exprimiert bekannt waren, und weitere 43 Gene, die in anderen Tumorentitäten als differenziell exprimiert beschrieben wurden. 182 der in dieser

Arbeit identifizierten DES, darunter 77 überexprimierte sowie weitere 105 unterexprimierte Sequenzen, waren zuvor noch nicht als tumorassoziiert beschrieben worden.

Der Vergleich der identifizierten DES aus der Tumordinvasionsfront und aus der zentralen Tumorregion ergab eine gemeinsame Schnittmenge von nur ca. 50 % der DES, die sich in beiden Tumorarealen als gleichartig differenziell exprimiert erwiesen. Die restlichen 50% erfüllten zwar nicht in beiden Tumorarealen die in dieser Arbeit festgelegten heuristischen Kriterien der differenziellen Expression, waren aber dennoch in den unterschiedlichen Tumorregionen ähnlich exprimiert.

Die untersuchten kolorektalen Gewebeproben ließen sich anhand ihrer gesamten Expressionsprofile in der Clusteranalyse sämtlicher 11.903 detektierter Probensätze eindeutig einer Tumor- und einer Normalgewebegruppe zuordnen.

Es gelang nicht, die untersuchten Gewebeproben anhand ihrer differenziellen Expressionsprofile in der Clusteranalyse der identifizierten DES entsprechend ihrer histopathologischen Eigenschaften zu gruppieren bzw. identifizieren.

Die Normalgewebeproben ließen sich anhand ihrer differenziellen Expressionsprofile nicht reproduzierbar als Gewebeprobe der entwicklungsgeschichtlich unterschiedlichen Darmabschnitte, proximal des Kolon descendens bzw. distal des Kolon transversum, identifizieren.

Die Clusteranalysen ergaben zudem, dass die Gewebe unterschiedlicher Tumorareale, der Tumordinvasionsfront (IT) und der zentralen Tumorregionen (RT), keine eigenständigen Gruppen bildeten, sondern die IT und RT Proben des gleichen Patienten innerhalb des Tumorgewebeclusters in den meisten Fällen korrespondierende Dupletts bildeten und somit bezüglich ihrer Genexpression einander ähnlicher waren als im interindividuellen Vergleich.

Um die statistische Aussagekraft dieser Arbeit weiter zu stärken, wird das Patientenkollektiv auf 75 Patienten erweitert. Des Weiteren werden einzelne identifizierte DES, wie z.B. Claudin 1, auf RNA- und Proteinebene validiert. Der geplante Abgleich der Expressionsprofile mit der 5-Jahres-Überlebensrate der Patienten wird zeigen, ob sich prognoserelevante Expressionsprofile mit einer von den herkömmlichen histopathologischen Prognoseparametern unabhängigen Aussagekraft ergeben. Inwiefern die in dieser Arbeit identifizierten DES als neue potenzielle Tumormarker bedeutsam sind oder potenziell therapeutische Zielgene darstellen, muss noch weiter evaluiert werden.