

5 Ergebnisse

Für die hier vorliegende Arbeit standen aus der Tumorbank der AG Reszka 75 intrakranielle, supratentorielle Hirnmetastasen zur Verfügung. Die Zuordnung der Metastasen zu bestimmten Primärtumoren erfolgte nach histopathologischer Beurteilung der Operationsresektate. Im Einzelnen handelt es sich dabei um die Filiae folgender Primärtumore (siehe Tab.3) : Die Messwerte für die primären Hirntumore (primäre, sekundäre und re-

Primärtumor	Anzahl der zur Verfügung stehenden Proben
Bronchialcarcinom	29
Nierenzellcarcinom	12
Mammacarcinom	12
malignes Melanom	4
Colonicarcinom	2
Liposarkom	1
unbekannter Primärtumor	15

Tabelle 3: Anzahl und Art der bearbeiteten Tumorproben

zidierte GBMs), die zum Vergleich zu den Metastasen herangezogen werden, stammen aus einer parallel angefertigten Arbeit. Sie wurden von Carola Schubert in der selben Arbeitsgruppe von Frau Dr. Regina Reszka am MDC erstellt. Die untersuchten Tumore wurden ebenfalls der Tumorbank entnommen und unter Verwendung derselben Methode und mit den selben Materialien wie in dieser Arbeit beschrieben bearbeitet.

5.1 Ergebnisse der RNA-Isolation

Aus allen Tumorproben wurde nach dem angegebenen Protokoll total-RNA isoliert. Inwieweit die Tumorproben für die weitere Beantwortung der Fragestellung verwendbar sind, hängt von zwei Faktoren ab: der Qualität und der Quantität der isolierten RNA. Für die Verwendung der RNA für die RT-PCR muss mindestens eine Konzentration von 10 ng/ μ l vorliegen. Die Konzentration wird durch Extinktionsmessung bei 260 nm bestimmt. Die Qualität der RNA wird durch die RNA-Gele festgestellt. Zu stark degradierte RNA ist für die weitere Verwendung nicht geeignet, da sie keine sinnvolle Aussage über die Expression von bestimmten Genen zulässt. Die RNA ist durch RNasen zu stark abgebaut und enthält keine vollständigen, sinnvollen Sequenzen mehr. Auf den RNA-Gelen ist dies gut sichtbar. Die für total-RNA typischen zwei Banden sind in diesem Fall nicht mehr zu erkennen. Für 29 Tumore wurde eine ausreichend hohe Konzentration an RNA bei der Isolation erzielt und die RNA-Gele weisen auf eine gute RNA-Qualität hin. Die Metastasen von folgenden Primärtumoren können für die weitere Beantwortung der Fragestellung verwendet werden (siehe Tab.4, Seite 29).

	Primärtumor	Tumornummer	Konzentration [$\mu\text{g}/\mu\text{l}$]
M18	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	1070/99	5,410
M23	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	1099/99	3,862
M24	Bronchialkarzinom	1116/99	6,764
M30	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	1030/00	1,988
M36	Bronchialkarzinom	1052/00	8,318
M37	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	1061/00	2,632
M42	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	1087/00	4,674
M43	Bronchialkarzinom (Adenokarzinom)	1096/00	12,704
M49	Bronchialkarzinom	1028/01	7,760
M7	Nierenzellkarzinom	1055/98	1,311
M8	Nierenzellkarzinom	1003/99	4,190
M12	Nierenzellkarzinom	1029/99	3,434
M13	Nierenzellkarzinom	1039/99	3,401
M27	Nierenzellkarzinom	1016/00	2,849
M28	Nierenzellkarzinom	1023/00	4,661
M35	Nierenzellkarzinom	1048/00	4,105
M38	Nierenzellkarzinom	1067/00	4,227
M16	Mammakarzinom	1055/99	0,714
M22	Mammakarzinom	1095/99	6,299
M25	Mammakarzinom (Adenokarzinom)	1131/99	1,204
M32	Mammakarzinom	1040/00	1,029
M41	Mammakarzinom (Adenokarzinom)	1079/00	2,188
M46	Mammakarzinom (Adenokarzinom)	1002/01	5,756
M2	malignes Melanom	1015/98	3,404
M9	malignes Melanom	1013/99	6,324
M39	malignes Melanom	1072/00	6,009
M15	unbekannter Primärtumor (Adenokarzinom)	1054/99	0,122
M33	unbekannter Primärtumor (Plattenepithelkarzinom)	1045/00	3,936
M19	Colonkarzinom (Adenokarzinom)	1080/99	2,272

Tabelle 4: RNA- Konzentrationen

5.2 Ergebnisse der Plasmid-Maxi-Präparation und der Sequenzanalyse

30% der sequenzierten Klone sind nicht verwertbar, da sie kontaminiert sind und daher unreine Sequenzen aufweisen. 70% können für die Untersuchungen herangezogen werden und bilden die Grundlage für die folgende detaillierte Ergebnisdarstellung.

5.3 Auswertung der semiquantitativen RT-PCR

In allen untersuchten 29 Metastasen wird HIF-3 α hochreguliert. Eine signifikante Hochregulation von HIF-3 α findet sich in 30% (11/29) der Proben. Bei diesen Tumorproben beträgt der Expressionsfaktor >2 .

5.3.1 Metastasen von Bronchialkarzinomen

Bei den Metastasen von Bronchialkarzinomen zeigt sich in 66% der untersuchten Metastasen eine signifikante Hochregulation von HIF-3 α . In Abbildung 5, Seite 31 sind die tabellarischen Daten graphisch aufbereitet, wobei der Mittelwert des Expressionsfaktors als Säule und die Standardabweichung als Linie dargestellt ist. In zwei der Proben beträgt der Expressionsfaktor weit über 100 (siehe Tabelle 5, Seite 30).

	Expressionsfaktor	Standardabweichung
M18	788,1003	247,8639
M23	148,0313	84,0454
M24	2,0195	0,5687
M30	0,6037	0,3154
M36	1,7702	0,453
M37	2,5157	1,8338
M42	2,3599	1,5031
M43	2,8563	1,454
M49	0,9368	0,473

Tabelle 5: Expressionsfaktoren von HIF-3 α in Metastasen von Bronchialkarzinomen

Beide Proben sind ihrer histologischen Beurteilung nach Metastasen von Adenokarzinomen der Lunge. Auch die Expressionsfaktoren der Proben M30, M37 und M42 sind bei Tumoren gemessen, deren ursprünglicher Tumor ein Adenokarzinom der Lunge ist. Sowohl bei M37 als auch M42 zeigt sich eine signifikante Steigerung der Expression von HIF-3 α .

5.3.2 Metastasen von Nierenzellkarzinomen

Von acht untersuchten Nierenzellkarzinometastasen zeigen zwei eine Expressionssteigerung von HIF-3 α , die größer als 2 ist. Dies entspricht einer signifikanten Hochregulation in 25% der Fälle.

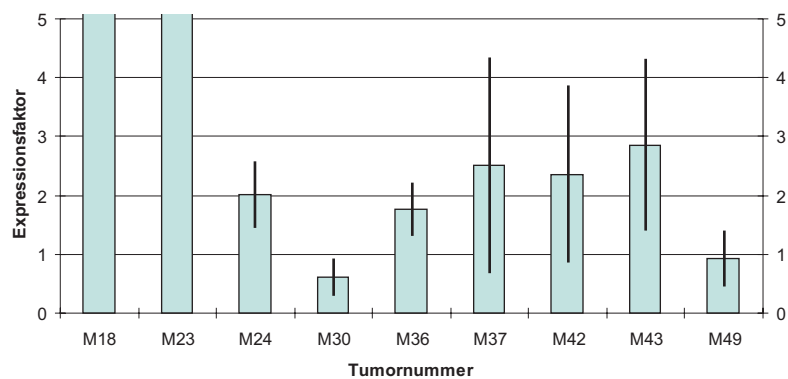


Abbildung 5: Metastasen von Bronchialkarzinomen

	Expressionsfaktor	Standardabweichung
M7	2,6487	0,3391
M8	1,3504	0,1696
M12	1,1481	0,2245
M13	0,8755	0,1824
M27	0,8214	0,4919
M28	2,933	0,5729
M35	1,4645	0,2227
M38	1,4542	0,6227

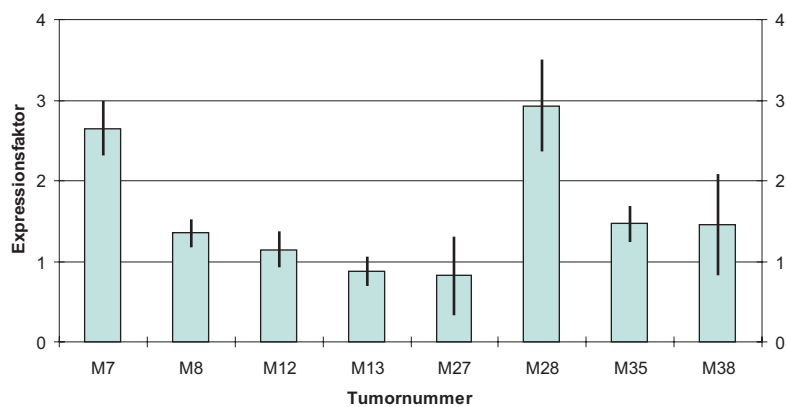
Tabelle 6: Expressionsfaktoren von HIF-3 α in Metastasen von Nierenzellkarzinomen

Abbildung 6: Metastasen von Nierenzellkarzinomen

5.3.3 Metastasen von Mammakarzinomen

Alle untersuchten Metastasen von Mammakarzinomen regulieren HIF-3 α hoch. Jedoch zeigen nur 33% der untersuchten Proben eine signifikante Expressionssteigerung mit einem Expressionsfaktor >2 (siehe Tabelle 7, Seite 32).

	Expressionsfaktor	Standardabweichung
M16	2,6037	0,2363
M22	618,6578	276,6119
M25	1,5116	0,1369
M32	1,2455	0,3099
M41	1,4043	0,1112
M46	1,4147	0,4035

Tabelle 7: Expressionsfaktoren von HIF-3 α in Metastasen von Mammakarzinomen

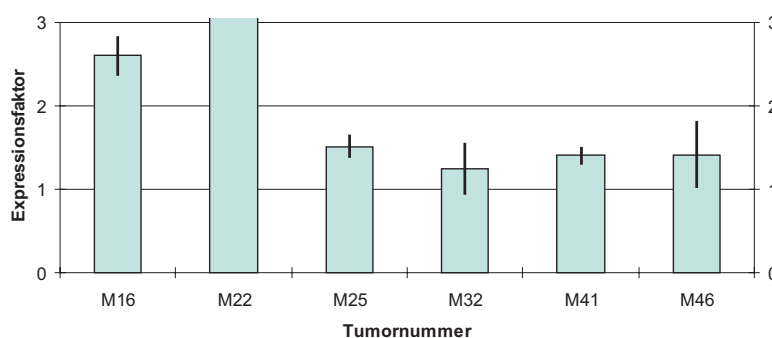


Abbildung 7: Metastasen von Mammakarzinomen

5.3.4 Metastasen von malignen Melanomen

Im Falle der Metastasen von malignen Melanomen konnte keine signifikante Expressionssteigerung gemessen werden.

	Expressionsfaktor	Standardabweichung
M2	1,9167	1,0445
M9	1,3621	0,4262
M39	1,7164	0,8552

Tabelle 8: Expressionsfaktoren von HIF-3 α in Metastasen von malignen Melanomen

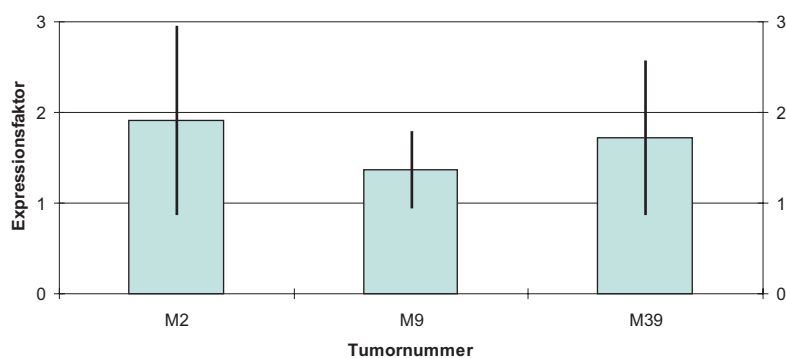


Abbildung 8: Metastasen von malignen Melanomen

5.3.5 Metastasen von unbekanntem Primärtumoren

Wie aus der Tabelle 9, Seite 33 zu entnehmen ist, weisen die Metastasen, deren Primärtumor nicht bekannt ist, keine signifikante Expressionssteigerung von HIF-3 α auf.

	Expressionsfaktor	Standardabweichung
M15	1,52	0,9009
M33	0,8755	0,1824

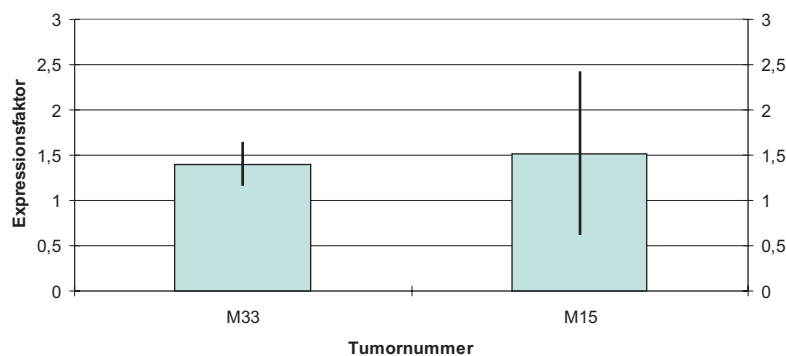
Tabelle 9: Expressionsfaktoren von HIF-3 α in Metastasen von unbekanntem Primärtumoren

Abbildung 9: Metastasen mit unbekanntem Primärtumor

5.3.6 primäre Glioblastome

Bei den untersuchten GBMs lässt sich ebenfalls in allen Fällen eine Expressionssteigerung von HIF-3 α feststellen. Von 56 GBM weisen 33 eine Steigerung der Expression von HIF-3 α >2 auf. Das entspricht 58,92%.

Von den primären Glioblastomen zeigen 57,89% (11/19) eine signifikante Expressionssteigerung von HIF-3 α .

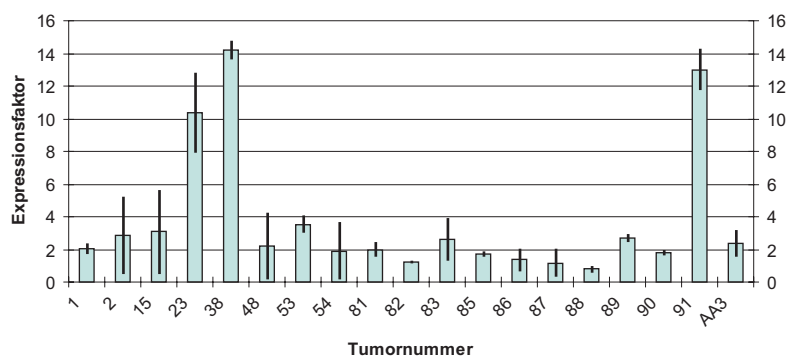


Abbildung 10: primäre Glioblastome

5.3.7 sekundäre Glioblastome

11 von 21 sekundären GBMs zeigen eine Hochregulation von HIF-3 α >2 . Damit ist in 52,38% der untersuchten Proben eine signifikante Expressionssteigerung festzustellen.

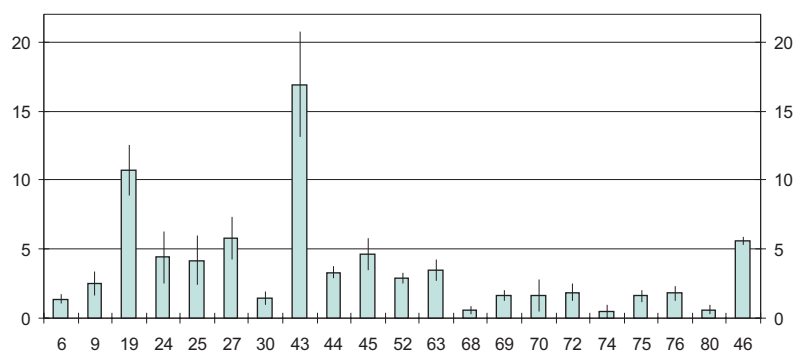


Abbildung 11: sekundäre Glioblastome

5.3.8 rezidierte Glioblastome

Bei den rezidierten GBMs zeigt sich ebenfalls in mehr als der Hälfte der untersuchten Tumorproben eine signifikante Expressionssteigerung von HIF-3 α . Bei 11 von 16 rezidierten GBMs lässt sich die Hochregulation feststellen. Das entspricht 52,38%.

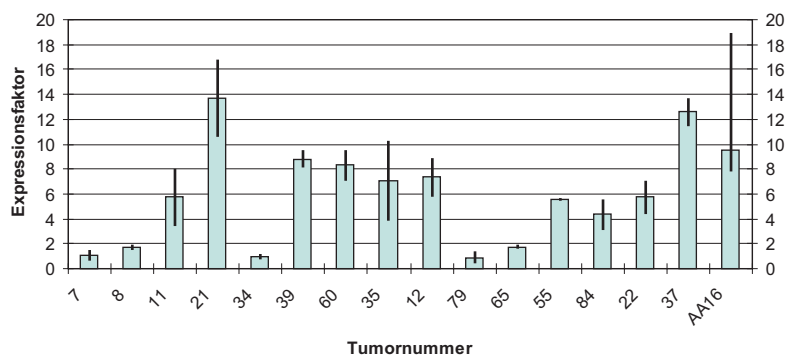


Abbildung 12: rezidierte Glioblastome

	Expressionsfaktor	Standardabweichung
1	2,0076	0,3284
2	2,849	2,3646
15	3,0845	2,587
23	10,379	2,4334
38	14,1851	0,5738
48	2,2034	2,0132
53	3,5505	0,499
54	1,9169	1,7619
81	1,9925	0,4229
82	1,2166	0,1042
83	2,6069	1,2842
85	1,6885	0,1763
86	1,3627	0,6695
87	1,1606	0,8491
88	0,7761	0,1806
89	2,682	0,2719
90	1,8169	0,1822
91	13,0128	1,2363
AA3	2,3841	0,833

Tabelle 10: Expressionsfaktoren von HIF-3 α in primären Glioblastomen

	Expressionsfaktor	Standardabweichung
7	1,0791	0,448
8	1,6696	0,2091
21	13,6815	3,1218
34	0,9532	0,227
39	8,8015	0,7017
60	8,2897	1,1987
35	7,0889	3,1865
12	7,3275	1,5742
79	0,8944	0,4807
65	1,76	0,1738
55	5,5951	0,0965
84	4,341	1,2237
22	5,7241	1,3296
37	12,6087	1,1146
AA16	9,4838	1,6734
11	5,7539	2,2872

Tabelle 11: Expressionsfaktoren von HIF-3 α in rezidierten Glioblastomen

	Expressionsfaktor	Standardabweichung
6	1,3767	0,313
9	2,5136	0,87
19	10,7168	1,7992
24	4,3977	1,8726
25	4,17	1,7815
27	5,7684	1,5249
30	1,4582	0,4863
43	16,924	3,7737
44	3,3166	0,4551
45	4,6376	1,14
52	2,9189	0,3991
63	3,4769	0,7606
68	0,5868	0,2711
69	1,6504	0,4127
70	1,6475	1,1232
72	1,8508	0,615
74	0,5199	0,4916
75	1,6066	0,423
76	1,7875	0,5407
80	0,6235	0,3655
46	5,5638	0,2847

Tabelle 12: Expressionsfaktoren von HIF-3 α in sekundären Glioblastomen