

Detektion von disseminierten Tumorzellen im Muskelgewebe in postmortalen Biopsien

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)

an der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von

Lukas Karim Gebara

aus

Offenbach am Main

2025

Betreuer:in / Gutachter:in der Dissertation: Prof. Dr. Harriet Wikman-Kocher

Gutachter:in der Dissertation: PD Dr. Stefan Steurer

Vorsitz der Prüfungskommission: PD Dr. Stefan Steurer

Mitglied der Prüfungskommission: PD Dr. Ann Sophie Schröder

Mitglied der Prüfungskommission: Prof. Sarah Minner

Datum der mündlichen Prüfung: 18.03.2026

Inhaltsverzeichnis

Arbeitshypothese und Fragestellung.....	4
1 Einleitung	5
1.1 Epitheliale Tumoren	5
1.2 Faktoren für die Tumorbildung.....	6
1.3 Entstehung von Metastasen	8
1.3.1 Wege der Metastasierung	10
1.3.2 Epitheliale Mesenchymale Transition (EMT)	11
1.3.3 <i>Seed and soil</i> Hypothese.....	12
1.4 Minimale Resterkrankung	12
1.4.1 Disseminierte Tumorzellen	12
1.4.2 Ruhezustand (<i>Dormancy</i>).....	13
1.4.3 Seneszente Zellen	14
1.5 Muskelgewebe	15
1.5.1 Aufbau der Skelettmuskulatur	17
1.5.2 Aufbau der Herzwand	18
2 Material und Methodik.....	20
2.1 Studiengenehmigung und ethische Zustimmung:.....	20
2.2 Patientenkollektiv	20
2.3 Detektion der disseminierten Tumorzellen (DTCs).....	20
2.3.1 Probenentnahme	21
2.3.2 Formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) Blöcke und immunhistochemische Färbungen.....	22
2.3.3 Analyse der Objektträger	23
2.3.4 Auswertung der Objektträger.....	23
2.4 Statistische Analyse.....	24
3 Ergebnis	25
3.1 Demographische und Tumor-assoziierte Daten der Tumorkohorte.....	25
3.2 Demographische Daten und Todesursache in der Kontrollgruppe.....	27
3.3 Anzahl der DTCs im Skelettmuskel der Verstorbenen der Tumorkohorte	28

3.4	Anzahl der DTCs im Skelettmuskel der Verstorbenen der Kontrollgruppe	31
3.5	Immunhistochemische Analyse der mittels Feinnadelbiopsie gewonnenen Proben	33
3.6	Lokalisation der Keratin- und EpCAM-positiven Zellen und Cluster im Skelettmuskel	35
3.7	Anzahl der DTCs im Herzmuskel der Tumorkohorte	38
3.8	Anzahl der DTCs im Herzmuskel der Kontrollkohorte	39
3.9	Vergleich der Häufigkeit des Auftretens von DTCs in der Tumorkohorte und in der Kontrollgruppe	40
3.10	Korrelation zwischen der Häufigkeit des Auftretens von DTCs und dem PMI	44
4	Diskussion.....	45
4.1	Methodisches Vorgehen	45
4.2	Nachweis von Keratin- und EpCAM-positiven DTCs im Skelettmuskel.....	48
4.3	Nachweis von DTCs im Skelettmuskel mit weiteren Markern	49
4.4	Nachweis von Keratin- und EpCAM-positiven DTCs im Herzmuskel	50
4.5	Vergleich der Befunde im Skelett- und Herzmuskel	51
4.6	Lokalisation der DTCs im Skelettmuskel	52
4.7	Schlussfolgerungen und Ausblick.....	53
5	Zusammenfassung / Summary	54
6	Literaturverzeichnis	56
7	Abkürzungsverzeichnis	64
8	Abbildungsverzeichnis	65
9	Tabellenverzeichnis	67
10	Eidesstattliche Versicherung	68
11	Danksagung	69

Arbeitshypothese und Fragestellung

Das Ziel dieser Dissertation ist die Analyse der potenziellen Rolle von Muskeln als Reservoir für disseminierte Tumorzellen (DTCs). Die Anwesenheit von DTCs im Knochenmark wurde mit einem schlechteren Krankheitsverlauf bei epithelialen Tumoren wie dem Mammakarzinom in Verbindung gebracht. DTCs im Knochenmark korrelieren mit einem höheren Tumorstadium, einer schlechteren Differenzierung, dem Auftreten von Lymphknoten-Metastasen und einer fehlenden Hormonrezeptor-Expression (Braun et al. 2005). Bisher wurden kaum Studien zum Auftreten von DTCs im Skelettmuskel publiziert. Unklar ist beispielsweise, ob zirkulierende Tumorzellen (CTCs) in die Muskulatur eindringen können oder ob potenziell vorhandene DTCs im Muskelgewebe in einem Ruhestadium ohne erkennbare Wachstumsaktivität verharren.

Zur Beantwortung der Fragestellung, ob Muskeln ein bisher vernachlässigtes Reservoir für DTCs darstellen, werden in der vorliegenden Dissertation folgende Punkte adressiert:

- 1) Sind generell DTCs im Muskelgewebe auffindbar?
- 2) Wie häufig können DTCs detektiert werden? Sind DTCs in allen Tumorentitäten nachweisbar?
- 3) Wo sind potenzielle DTCs im Skelettmuskel lokalisiert?
- 4) Gibt es Unterschiede zwischen verschiedenen Muskelarten (Skelettmuskel vs. Herzmuskel) im Hinblick auf das Vorkommen von DTCs?

Zur Beantwortung dieser Fragen wurden Proben aus dem Skelett- und Herzmuskel von Verstorbenen mit und ohne bekannte epitheliale Tumorerkrankung auf das Vorhandensein von DTCs anhand der Expression epithelialer Marker untersucht.

Die Ergebnisse dieser Forschungsarbeit könnten dazu beitragen, die Ausbreitung von Tumorzellen und deren Auswirkung auf den Krankheitsverlauf besser zu verstehen. Dieses vertiefte Verständnis könnte neue Erkenntnisse zur Metastasierung von Tumoren und neue Ansätze für die Therapieentwicklung bieten.

1 Einleitung

1.1 Epitheliale Tumoren

Tumoren sind komplexe biologische Phänomene, die das Ergebnis eines gestörten Gleichgewichts beim Zellwachstum darstellen. Der Verlust der Kontrolle über das Zellwachstum kann zu einer Vielzahl von Gewebepathologien führen, darunter auch epitheliale Tumoren (Jones und Baylin 2007). Epitheliale Tumoren stellen eine wichtige Untergruppe von Neoplasien dar. Sie können in verschiedenen Bereichen des Körpers auftreten, da die Oberflächen der Organe mit epithelialelem Gewebe ausgekleidet sind. Alle epithelialen Tumoren entstammen epithelialelem Gewebe (Weiss und Frese 1974), unterscheiden sich aber hinsichtlich ihrer Wachstums- und Differenzierungseigenschaften. Sie können in gutartige (benigne), bösartige (maligne) und semimaligne Formen unterteilt werden, wobei letztere oft infiltrativ sind, jedoch selten Metastasen bilden. Komplexe Tumoren können sowohl maligne als auch benigne Anteile aufweisen (Eneroth 1965, Hanahan und Weinberg 2000).

Die Diagnose epithelialer Tumoren ist komplex und beinhaltet eine Vielzahl an bildgebenden Verfahren (z. B. Computer-, Magnetresonanz-, Positronenemissionstomographie). Ergänzend werden Gewebeproben in Form von Biopsien entnommen und histopathologisch untersucht (He et al. 2020). Die histopathologische Analyse erlaubt die Bestimmung des Tumorgades und gibt Aufschluss über prognostische Faktoren. Zusätzlich lassen sich intraoperativ Resektionsränder überprüfen. Die Histopathologie liefert zudem Informationen über den möglichen Einsatz zielgerichteter Therapieoptionen (Humphrey 2017).

Epitheliale Tumoren weisen auch bei erfolgter Dissemination spezifische epitheliale Marker (z. B. intrazelluläre Keratine) auf. Diese Keratine sind im mesenchymalen Skelettmuskelgewebe nicht nachweisbar und erlauben daher eine Zuordnung des disseminierten Gewebes zum ursprünglichen epithelialen Tumor.

Die Diagnose und individualisierte Therapie bestimmen den Verlauf der Erkrankung. Aufgrund von Fortschritten in der molekularen Diagnostik, bei der Erforschung der Pathogenese und beim Verständnis komplexer Tumorerkrankungen hat sich die Lebenserwartung betroffener Patienten erhöht und ihr Outcome verbessert (Thakor und Gambhir 2013).

1.2 Faktoren für die Tumorbildung

Die Tumorphogenese wird durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst. Dazu zählen beeinflussbare exogene sowie nicht modifizierbare biologische Faktoren.

Wegweisend waren die im Jahre 2000 veröffentlichten *Hallmarks of Cancer*, die grundlegende biologische Merkmale, die zu einer Tumorbildung beitragen, aufzeigen. Ausschlaggebend für die Manifestation eines bösartigen Tumors sind danach sechs Faktoren. Dazu zählen die Überwindung der Apoptose, eine autonome Verfügbarkeit von Wachstumssignalen, die Resistenz gegenüber Wachstumssuppressoren, die Angiogenese, eine unbegrenzte Replizierbarkeit sowie die Invasion in umliegende Gewebe bzw. Metastasierung (Hanahan und Weinberg 2000).

Durch weiterführende Untersuchungen wurde das Konzept der *Hallmarks of Cancer* 2011 erweitert. Dabei wurden zwei zusätzliche Eigenschaften identifiziert, die für die Tumorphogenese und Metastasierung entscheidend sind. Dazu zählt die Instabilität des Genoms, wodurch Mutationen begünstigt werden, die die Kernelemente der *Hallmarks of Cancer* beeinflussen. Weiter wurde die Bedeutung des Immunsystems für prä-maligne Läsionen aufgezeigt. Durch das Immunsystem ausgelöste entzündliche Prozesse können die Tumorprogression begünstigen. Das Kernkonzept wurde ebenfalls um zwei Schlüsselmerkmale ergänzt. Dabei handelt es sich einerseits um die Anpassung des Zellstoffwechsels, um den gesteigerten Energiebedarf proliferierender Zellen zu decken. Dazu ist eine umfangreiche Umprogrammierung des Energiehaushaltes der Tumorzellen erforderlich. Hinzu kommt die Fähigkeit der Tumorzellen sich durch verschiedene Mechanismen den angreifenden Zellen des Immunsystems aktiv zu entziehen bzw. zu widersetzen (Hanahan und Weinberg 2011).

Elf Jahre später wurde das bestehende Konzept der *Hallmarks of Cancer* weiter vertieft. Zu der vielschichtigen Pathogenese zählen weitere Aspekte, wie die Freischaltung der phänotypischen Plastizität, die nicht mutationsbedingte epigenetische Programmierung, das polymorphe Mikrobiom und seneszente Zellen (s. *Abb. 1*). Die Bedeutung seneszenten Zellen wird im Kapitel 1.4.3 gesondert beschrieben (Hanahan 2022).

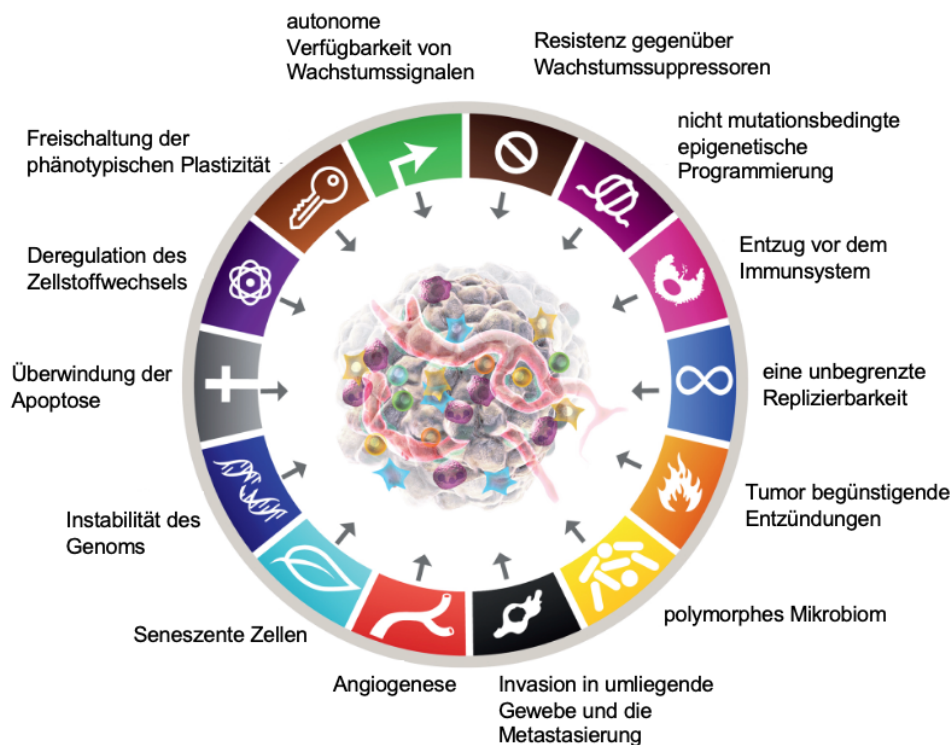


Abb. 1: Nicht aktiv modifizierbare Faktoren der Tumorgnese

Biologische Kernattribute, die die Tumorentstehung beeinflussen. Eigens modifiziert nach (Hanahan 2022).

Darüber hinaus gibt es aktiv beeinflussbare Faktoren, die das Risiko der Krebsentstehung erhöhen. In Deutschland hätten durch einen Wandel des Lebensstils 2018 insgesamt ca. 165.000 Krebsfälle vermieden werden können (s. Abb. 2).

Der Tabakkonsum gehört zu den wichtigsten Risikofaktoren und spielt insbesondere beim Lungenkrebs eine dominante Rolle. Weitere, das Krebsrisiko steigernde Einflussfaktoren sind Alkoholkonsum, Übergewicht, ungesunde Ernährung und mangelnde körperliche Aktivität. Diese Faktoren betreffen zunehmend mehr Personen (Destatis 2022; Kotz et al. 2018; Mons et al. 2018; Pflaum et al. 2016; Praud et al. 2016).

Auch Infektionen und Umweltfaktoren können zur Krebsentstehung beitragen. Infektionen mit *Helicobacter pylori* und dem humanen Papillomavirus (HPV) sind mit bestimmten Krebsarten assoziiert. *Helicobacter pylori* spielt bspw. beim *Mucosa associated lymphoid tissue* (MALT) Lymphom eine Rolle (Gredner et al. 2018).

Von den 100 Typen des HPV-Virus sind 13 Typen mit einem erhöhten Tumorrisiko assoziiert. Eine Infektion mit diesen Viren erhöht die Wahrscheinlichkeit an einem Zervix-, Anogenital- oder Oropharynx-Karzinom zu erkranken (Crosbie et al. 2013).

Daneben können Umweltfaktoren wie die Radonexposition und ultraviolette Strahlung das Krebsrisiko erhöhen (Börner et al. 2009, Gredner et al. 2018).

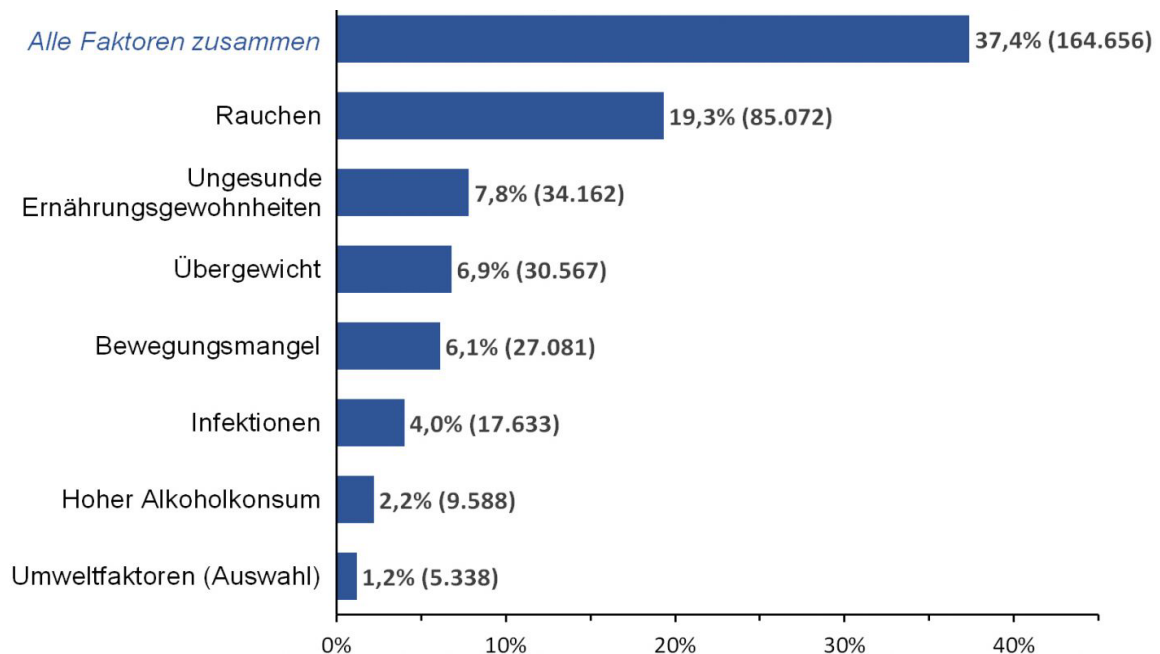


Abb. 2: Krebsfälle in Deutschland 2018 – Anteile (%) und absolute Zahlen der durch vermeidbare Krebsrisikofaktoren bedingten Erkrankungen (Gredner et al. 2018)

1.3 Entstehung von Metastasen

Die Entstehung von Metastasen ist ein komplexer Prozess. Die Metastasierung umfasst die Ablösung von Tumorzellen vom primären Tumor, ihre Invasion in umliegendes Gewebe, die Intravasation in Blut- oder Lymphgefäße, die Zirkulation im Blut- bzw. Lymphstrom und die Adhäsion und Extravasation in Zielorgane (s. Abb. 3). Die Entstehung von Metastasen ist ein kritischer Aspekt bei der Behandlung maligner Tumoren und hat einen erheblichen Einfluss auf die Prognose der Betroffenen. In etwa 90 % der Fälle ist das Vorhandensein von Metastasen entscheidend für das Überleben der Patienten (Lambert et al. 2017).

Schon im Jahr 1869 entdeckte Thomas Ashworth CTCs im Blut von Patienten mit metastasierten Tumoren. In den vergangenen Jahren wurde die Bedeutung der CTCs für die Prognose der Betroffenen und das Ansprechen auf Therapien immer deutlicher (Lianidou und Pantel 2019, Reimers und Pantel 2019).

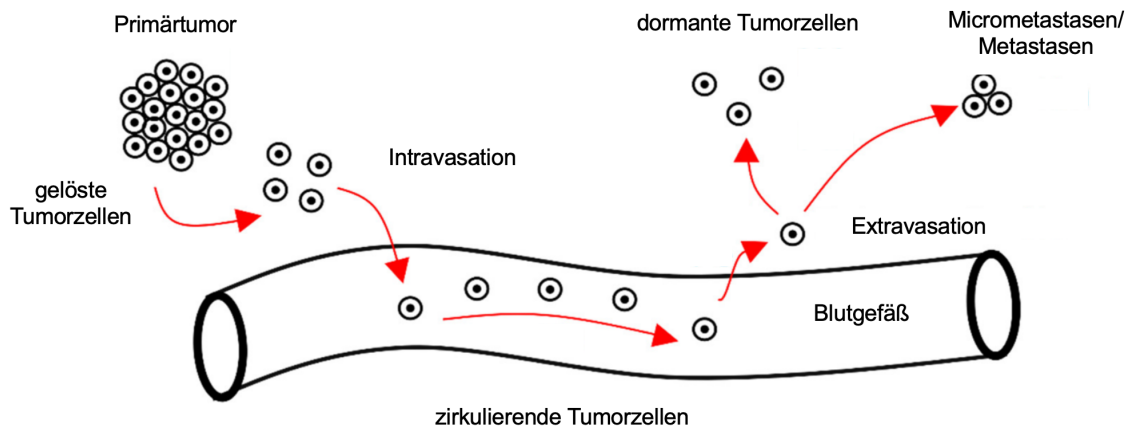


Abb. 3: Prozess der Metastasierung

Tumorzellen lösen sich aus dem Verbund des Primärtumors und gelangen beispielsweise in Blutgefäße (hämatogene Metastasierung). Diese Tumorzellen können wieder aus dem Gefäß in andere Organe austreten und zu Metastasen proliferieren. Eigens modifiziert nach (Dujon et al. 2021).

Der Prozess der Metastasierung beginnt in der Regel mit der Ablösung einzelner Tumorzellen vom primären Tumor, oft bedingt durch instabile Mitoseprozesse (Fares et al. 2020). Die Invasion einer Tumorzelle in das umgebende Gewebe und der Zugang zu Lymph- und Blutgefäßen sind Schlüsselschritte im Metastasierungsprozess. Blutgefäße stellen nicht nur die Versorgung der Tumorzellen mit Nährstoffen und Sauerstoff sicher, sondern bieten den Zellen auch die Möglichkeit sich im Körper auszubreiten (Nishida et al. 2006).

Bei der noch nicht vollständig verstandenen Intravasation dringt die Tumorzellen in Lymph- oder Blutgefäße ein. Dies kann über einen aktiven Prozess, bei dem die Tumorzellen aktiv das Endothel durchdringen, geschehen, oder über einen passiven Prozess, bei dem die Zellen aufgrund des umgebenden Drucks in die Gefäße gelangen (Bockhorn et al. 2007).

Nachdem die Tumorzellen das Gefäßendothel überwunden haben, zirkulieren sie als CTCs im Blut bzw. in der Lymphe. CTCs können als Einzelzellen oder in Form von Zellclustern auftreten, wobei Cluster eine bessere Überlebensrate und ein erheblich höheres metastatisches Potenzial besitzen. Faktoren wie die Epitheliale-Mesenchymale Transition (EMT), Signale des Stromas und persistente interepitheliale Zellverbindungen beeinflussen das Überleben und die Fähigkeit zur Metastasierung von CTCs (Aceto et al. 2014).

Ein weiterer entscheidender Schritt im Metastasierungsprozess ist die Fähigkeit von CTCs, sich erneut an Endothelzellen anzuheften und zu extravasieren, was die Bildung von Metastasen im vom Primärtumor entfernten Organen ermöglicht (Fares et al. 2020, Heeke et al. 2019).

Nach der Extravasation der Tumorzelle sind verschiedene Szenarien möglich. Die Tumorzelle kann durch Apoptose zugrunde gehen, im dormanten Zustand verharren (s. Kapitel 1.4.2) oder sich im Gewebe vermehren (Dissemination). DTCs stellen somit den Ursprung von Metastasen dar (Aguirre-Ghiso et al. 2013).

Bei allen drei Möglichkeiten spielt die metastatische Nische eine entscheidende Rolle. Die neue Umgebung bietet der Tumorzelle zum Teil schwierige Überlebensbedingungen, an die sich die DTCs adaptieren müssen (Valastyan und Weinberg 2011).

Die Entstehung von Metastasen ist ein komplexer und mehrstufiger Prozess. Das Verständnis dieser Mechanismen ist entscheidend für die Entwicklung von Therapien zur Bekämpfung von Metastasen und zur Verbesserung der Behandlung von Krebspatienten (Riihimäki et al. 2014).

1.3.1 Wege der Metastasierung

Die Metastasierung von Tumorzellen kann lymphogen oder hämatogen erfolgen (Pantel und Brakenhoff 2004).

Bei der lymphogenen Metastasierung nutzen Tumorzellen das Lymphsystem zur Verbreitung. Das Lymphsystem besteht aus Lymphkapillaren im Gewebe, Sammelgefäßen und Lymphknoten, die eine wichtige Rolle bei der Immunabwehr spielen. Eine Krebszelle kann über die Lymphkapillaren in das Lymphsystem gelangen. Von dort aus wird sie über die Sammelgefäße und Lymphknotenstationen transportiert. Schließlich kann die Krebszelle in den venösen Blutkreislauf eindringen (Zhou et al. 2021).

Verschiedene Charakteristika des lymphatischen Systems begünstigen die Metastasierung von Tumoren. Zum einen ermöglicht die strukturelle Beschaffenheit des Systems einen zielgerichteten Fluss, da die glatten internen Klappen und die umgebende Muskulatur kontrahieren und dilatieren. Darüber hinaus reagieren Tumorzellen auf chemotaktische Signale, die den Immunzellen eine Richtung vorgeben. Aufgrund der relativen Durchlässigkeit des lymphatischen Systems können Tumorzellen leicht in den Blutkreislauf eindringen (Karaman und Detmar 2014, Banyard und Bielenberg 2015, Randolph et al. 2005).

Bei der hämatogenen Metastasierung folgen Tumorzellen dem venösen Blutfluss und befallen bevorzugt Organe, die auf diesem Weg liegen. Die Metastasierung folgt somit den

anatomischen Gegebenheiten des venösen Abflusses. Zum Beispiel neigen Tumoren des Rektums zur Metastasierung in die Leber, da der venöse Abfluss über die Vena portae in die Leber erfolgt. Der venöse Abfluss des unteren Rektums über die Vena cava inferior erlaubt dagegen eine hämatogene Metastasierung in die Lunge (Chandra et al. 2021, Tan et al. 2009).

1.3.2 Epitheliale-Mesenchymale Transition (EMT)

Die bereits 1995 von Elisabeth Hay beschriebene EMT stellt einen bedeutsamen molekularen Mechanismus für verschiedene physiologische und pathologische Prozesse dar (Hay 1995). Während dieser Transition durchlaufen Zellen eine reversible Umwandlung von einem epithelialen zu einem mesenchymalen Phänotyp (Ang et al. 2023).

Die EMT beeinflusst die Form, Adhäsion und Bewegung betroffener Zellen. Wenn Tumorzellen mesenchymale Eigenschaften erlangen, erhöht sich ihre Beweglichkeit und Invasivität, wodurch sich die Möglichkeit der Dissemination in entfernte Gewebe und Organe ergibt (Banyard und Bielenberg 2015, Mitra et al. 2015). Diese Zusammenhänge unterstreichen die Bedeutung der EMT im Hinblick auf die Tumorprogression und das metastatische Potenzial. Insbesondere eine partielle EMT erhöht das metastatische Potenzial. Hierbei weisen die Zellen sowohl mesenchymale als auch epitheliale Eigenschaften auf, was einen zusätzlichen Überlebensvorteil darstellt (Saitoh 2018).

Der Prozess der EMT und der reverse Vorgang (mesenchymale epitheliale Transition) spielen aber nicht nur bei pathogenen Prozessen (z. B. Dissemination von Krebszellen) eine Rolle. Beispielsweise ist die EMT für die Embryogenese und die Wundheilung von Bedeutung (Kalluri und Weinberg 2009).

Der molekulare Prozess der EMT ist komplex. Das EMT-Programm wird durch extrazelluläre Signale aktiviert (EMT-Induktoren, bspw. TGF- β), die wiederum über intrazelluläre Signalkaskaden Transkriptionsfaktoren aktivieren, die das EMT-Programm regulieren (EMT-Kernregulatoren, bspw. Snail). Das führt zu einer veränderten Expression der Effektormoleküle, die das EMT-Programm vollziehen (EMT-Effektoren, bspw. E-Cadherin) (Tsai und Yang 2013).

Aufgrund der zentralen Bedeutung der EMT innerhalb der Metastasierung rückt dieser Prozess zunehmend in den Fokus neuer Forschungsansätze. Aktuell werden verschiedene therapeutische Strategien verfolgt, die entweder auf eine Hemmung der EMT oder auf eine Rückführung in den Ausgangszustand abzielen (Huang et al. 2022).

1.3.3 Seed and soil Hypothese

Im Jahr 1889 stellte der englische Chirurg Stephen Paget eine Hypothese vor, um das nicht zufällige Muster der Metastasierung zu erklären (Paget 1889). Laut dieser *Seed and Soil* Theorie haben Tumorzellen mit Metastasierungspotenzial eine besondere Affinität zu der Mikroumgebung in bestimmten Organen. Diese Theorie legt nahe, dass Metastasen nur dann auftreten, wenn Tumorzellen und Zielorgane miteinander kompatibel sind. Besonders häufig betroffen sind die lokalen und regionalen Lymphknoten sowie Lunge und Leber, da die spezielle vaskuläre Architektur der Lunge und die immunsuppressive Leberumgebung die Ansiedlung und das Überleben von Tumorzellen begünstigen (Morgan-Parkes 1995, Altorki et al. 2019, Brodt 2016).

Die *Seed and Soil* Hypothese hebt die Bedeutung der Wechselwirkung zwischen Tumorzellen und dem umgebenden Gewebe hervor und betont die Rolle spezifischer Regulatoren bei dem komplexen Prozess der Metastasierung. Das Verständnis dieser Wechselwirkungen könnte die Grundlage für die Entwicklung neuer Therapieansätze zur Bekämpfung von Metastasen bilden und somit die Aussichten für Tumorpatienten verbessern (Gupta und Massagué 2006, Lambert et al. 2017, Fidler 2003).

1.4 Minimale Resterkrankung

Mit dem Begriff minimale Resterkrankung wird das Vorhandensein klinisch bedeutsamer geringer Tumorabspaltungen beschrieben. Geringe Mengen an Tumorzellen können trotz erfolgter Tumorthherapie im Körper unentdeckt verbleiben (Pantel und Alix-Panabières 2019). Dabei handelt es sich häufig um dormante oder seneszente Zellen. Diese Populationen an Krebszellen können trotz fehlender klinischer Manifestation zu einem Rezidiv führen (Bidard et al. 2008). Der Nachweis einer minimal residualen Erkrankung geht häufig mit einer schlechteren Prognose und einem schwereren Verlauf einher. Die Identifizierung und Charakterisierung von residualen Zellen als Ursprung für Rezidive bietet die Chance, therapeutische Strategien zu verbessern und die Rezidivraten zu verringern (Lin et al. 2011).

1.4.1 Disseminierte Tumorzellen

DTCs stellen eine heterogene Gruppe von Tumorzellen dar, die sich von ihrem Ursprungsort gelöst und eine neue Umgebung erreicht haben (Klein 2009). Bei den DTCs kann es sich sowohl um Einzelzellen als auch um Cluster handeln. Eine Dissemination tritt nicht nur bei Tumoren im fortgeschrittenen Stadium auf, sondern kann auch in frühen Tumorstadien

entstehen (Hosseini et al. 2016). Klinisch bedeutsam sind DTCs als Ausgangspunkt von Metastasen, wobei sich nicht aus jeder DTC eine Metastase entwickelt (Aceto et al. 2014).

Die Komplexität der Überwachung und Therapie von DTCs wird durch ihre Charakteristika verstärkt. DTCs kommen nur in sehr geringen Dichten vor, was eine Analyse auf Einzelzellebene erfordert. Im Knochenmark, einem bekannten Zielort von DTCs, wurden Dichten von 1×10^{-5} bis zu 10^{-6} nachgewiesen (Riethdorf et al. 2008, Pantel und Brakenhoff 2004). Neben der geringen Anzahl an DTCs stellt auch das umliegende Gewebe für die Detektion eine Herausforderung dar. Epitheliale DTCs lassen sich mit epithelialen Markern nur in nicht epitheliale Gewebe nachweisen, da in epithelialen Geweben das ganze Organ markiert wird.

Zudem erschwert auch die Heterogenität der DTCs den Nachweis und die Therapie. Unabhängig von der Tumorentität zeichnen sich DTCs durch eine hohe genetische Diversität aus (Stoecklein und Klein 2010). Bei der Behandlung betroffener Patienten ist zu berücksichtigen, dass sich die Charakteristika von DTCs im Vergleich zum Primärtumor potenziell verändert hat, wodurch sie resistent gegen vormals wirksame adjuvante Therapien werden können (Klein et al. 2002).

Ein weiterer Aspekt, der DTCs vor adjuvanten Chemotherapien schützt, ist ihr mitotisch inaktiver Zustand (G0-Phase des Zellzyklus). Chemotherapeutika, die vor allem auf proliferierende Zellen wirken, sind daher ineffektiv (Pantel et al. 1997). Aufgrund ihrer komplexen Detektion und der herausfordernden Probenentnahme (z. B. Knochenmark) haben sich DTCs bisher kaum in der Diagnostik etabliert (Magbanua et al. 2019). Zahlreiche Studien belegen jedoch, dass DTCs als Faktor für die Prognose, für das Ansprechverhalten auf adjuvante Therapieformen und für die Wahrscheinlichkeit der Rezidiventstehung hinzugezogen werden sollten (Sosa et al. 2014, Fehm et al. 2006, Riethdorf et al. 2008, Balic et al. 2006).

DTCs können mit spezifischen Antikörpern nachgewiesen werden. Für DTCs mit einem epithelialen Ursprung sind Antikörper gegen intrazelluläre Zytokeratine (z. B. A45-B/B3, AE1/AE3, KL-1) geeignet (Pantel und Brakenhoff 2004, Riethdorf et al. 2008). AE1/AE3 bindet an ein breites Spektrum von Zytokeratinen. Daher lassen sich mit diesem Antikörper auch Zellen darstellen, die nach Durchlaufen der EMT andere epitheliale Marker nicht mehr exprimieren (Riethdorf et al. 2008).

1.4.2 Ruhezustand (*Dormancy*)

Die Erstbeschreibung von dormanten Zellen erfolgte bereits im frühen 20. Jahrhundert (Willis 1934). Bei der *Dormancy* handelt es sich um einen temporären Zustand, in dem die Zellen in ihrem Wachstum pausieren und ihre Mitose stoppen (Hadfield 1954). In diesem

Zustand bleiben Tumorzellen häufig unentdeckt. Dormante Zellen spielen jedoch für das Auftreten von Rezidiven und für die Bildung von Metastasen eine wichtige Rolle (siehe unten). Der Zustand der *Dormancy* lässt sich auf verschiedene Mechanismen zurückführen:

- Bei der zellulär vermittelten *Dormancy* treten die Zellen in ein Programm ein, bei dem ihre Zahl konstant bleibt. Anders als bei der Seneszenz ist dieser Zustand allerdings reversibel und die Zellen können aus dem Ruhezustand wieder erwachen (Endo und Inoue 2019).
- Bei der immun-vermittelten *Dormancy* ist die Aktivität des Immunsystems der limitierende Faktor. Anders als bei der zellulären *Dormancy* kommt es weiter zu Zellteilungen, jedoch bleibt die Gesamtzahl der DTCs durch den Angriff der Immunzellen konstant (Aguirre-Ghiso 2007).
- Bei der angiogenen *Dormancy* ist der limitierende Faktor die Versorgung der DTCs. Die Zellen teilen sich zwar weiterhin, sterben aber aufgrund der limitierenden Versorgung auch wieder ab. Hieraus ergibt sich ein Gleichgewicht und eine konstante Anzahl an DTCs (Yeh und Ramaswamy 2015).

Die Auslöser für die Reaktivierung von dormanten Zellen sind aktuell noch nicht ausreichend geklärt. Bekannt ist jedoch, dass das Mikromilieu der Tumorzellen mit darüber entscheidet, ob Tumorzellen aus dem dormanten Zustand „erwachen“ oder in ihm verharren (Sosa et al. 2014). Für die Reaktivierung ist eine für die Tumorzelle günstige Mikroumgebung eine Grundvoraussetzung (Giancotti 2013). Zahlreiche Anpassungsmechanismen spielen bei der Wechselwirkung zwischen der Tumorzelle und der Umgebung eine Rolle (Aguirre-Ghiso 2018). Die Identifikation der Mechanismen für die Entstehung und die Beendigung des dormanten Zustands von Zellen ermöglicht die Entwicklung neuer Strategien zur Prävention und Behandlung von Tumorerkrankungen (Phan und Croucher 2020).

1.4.3 Senescente Zellen

Bei der Seneszenz handelt es sich um den physiologischen Alterungsprozess von Zellen (Pérez-Mancera et al. 2014). Hierbei kommt es zu einem irreversiblen Zellzyklusarrest. Häufig treten Zellen nach Schädigungen in den Zustand der Seneszenz ein, um größeren Schaden z. B. durch eine unkontrollierte Proliferation zu verhindern. Faktoren, die einen *Cell cycle arrest* (CCA) auslösen können sind beispielsweise chronischer Stress, Infektionen oder Mutationen. Die nicht mehr teilungsfähigen Zellen können metabolisch aktiv bleiben (Van Deursen 2014) und eine Vielzahl von Molekülen in das umgebende Gewebe, darunter Interleukine, Chemokine und Wachstumsfaktoren, sezernieren (Seneszenz-assoziiertes sekretorischer Phänotyp (SASP) (Hanahan 2022).

Beim Alterungsprozess können sich seneszente Zellen vom SASP ansammeln, die den Zellstoffwechsel stören, chronischen Entzündungen fördern und das Immunsystem beeinträchtigen (Campisi 2013). Daraus kann sich ein die Kanzerogenese förderndes Mikromilieu entwickeln (Liu und Hornsby 2007, Parrinello et al. 2005).

Die komplexe Rolle von seneszenten Zellen in der Tumorentwicklung ist noch nicht vollständig verstanden, was den Forschungsbedarf auf diesem Gebiet unterstreicht. Die gezielte Beseitigung seneszenten Zellen oder die Modulation des SASP könnten vielversprechender Ansätze sein. Die Seneszenzüberwachung bietet das Potenzial, die Effizienz von Tumortherapien und die Lebensqualität von Patienten zu verbessern (Wang et al. 2020).

1.5 Muskelgewebe

Im menschlichen Körper nimmt die Skelettmuskelmasse etwa 40 % der Körpermasse ein (Poortmans et al. 2005). Ungeachtet der großen Masse und der guten Durchblutung ist eine Metastasenbildung im Muskelgewebe selten (Plaza et al. 2008). Trotz des Fehlens von Metastasen könnte das Muskelgewebe aber ein Reservoir für minimale Resterkrankungen darstellen.

Auch Tumoren, die sich im Skelettmuskel manifestieren, sind äußerst selten. Sarkome machen weniger als 1 % aller Neoplasien aus (Vodanovich und Choong 2018). Bei Tumoren des Skelettmuskels werden benigne (z. B. Myome) und maligne (z. B. Rhabdomyosarkome) Formen unterschieden (s. Tab. 1).

Tab. 1: Häufigste benigne und maligne Tumoren im Skelettmuskel und im Herzen (absteigende Reihenfolge) (Sarjeant et al. 2003, Agamanolis et al. 1986)

Skelettmuskel		Herz	
Benigne	Maligne	Benigne	Maligne
Rhabdomyom	Rhabdomyosarkom	kardiales Myxom papilläres Fibroelastom Rhabdomyom	Angiosarkom malignes fibröses Histozytom

Sarkome des Weichgewebes stellen eine heterogene Gruppe dar (Cormier und Pollock 2004). Sie treten in verschiedenen Altersgruppen unterschiedlich häufig auf (Genadry et al. 2018). Insbesondere Kinder sind öfter von Sarkomen innerhalb des Muskels betroffen. Hierbei dominiert das Rhabdomyosarkom, bei dem zwei Subtypen unterschieden werden. Das

alveoläre Rhabdomyosarkom zeichnet sich durch eine balancierte Chromosomentranslokation aus (Skapek et al. 2019). Beim embryonalen Rhabdomyosarkom führt eine chromosomale Veränderung zum Verlust der Heterozygotie (Dagher und Helman 1999). Die Prognose von Rhabdomyosarkomen variiert stark und ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Mittlerweile hat sich die Überlebensrate von Kindern mit mildereren Verläufen deutlich verbessert. Rhabdomyosarkome im Erwachsenenalter und Fälle mit Metastasenbildung zeigen ein deutlich schlechteres Outcome (Dasgupta et al. 2016).

Noch seltener als Sarkome des Muskels sind im Skelettmuskel manifestierte Metastasen. Die herausfordernde Abgrenzung zwischen Metastasen und Sarkomen ist von großer Bedeutung. Bei nicht bekannten Primärtumoren sind Fehldiagnosen häufig (Surov et al. 2010). Die korrekte Diagnose ist für die Therapieplanung unverzichtbar, da es sich beim Auftreten von Skelettmuskel-Metastasen nicht mehr um eine lokale, sondern um eine systemische Erkrankung handelt (Koike et al. 2005).

Die Datenlage zum Nachweis von Metastasen im Skelettmuskel ist unzureichend (Koike et al. 2005, Li et al. 2016, Surov et al. 2010). Metastasen im Skelettmuskel werden aufgrund ihrer geringen Größe, dem Fehlen von Symptomen und ihrer Seltenheit häufig übersehen. Bei Metastasen des Skelettmuskels handelt es sich häufig um Zufallsbefunde im Rahmen des Tumorstagings (Surov et al. 2010).

Das Auftreten von Metastasen im Muskel ist meist auf eine hämatogene Dissemination (vergleiche Kapitel 1.3) zurückzuführen. Zusätzlich ist für den Musculus (M.) psoas eine lymphogene Dissemination über zwischen dem Muskel und der Wirbelsäule liegende Lymphknoten möglich (Perisano et al. 2012). Traumata fördern aufgrund einer veränderten Muskelphysiologie das Auftreten von Metastasen im Skelettmuskel (Magee und Rosenthal 2002). Sie sind mit einer äußerst schlechten Prognose verbunden. Häufig versterben die Betroffenen nach wenigen Monaten. Mögliche Therapieansätze sind die chirurgische Exzision, die Bestrahlung und die Chemotherapie (Harryman et al. 2021).

Die in *Tabelle 1* dargestellten Tumoren des Herzens sind mit einer Inzidenz von 0,001–0,03 % ebenfalls selten. Bei Primärtumoren handelt es sich in 75 % der Fälle um benigne Tumoren (Ladich und Virmani 2016). Eine Manifestation von Metastasen im Herzen ist mit 2–18,3 % zu beobachten (Bussani et al. 2007). Das klinische Erscheinungsbild von Neoplasien im Herzen ist heterogen; lebensbedrohliche Zustände (z. B. Herztamponaden, Arrhythmien) sind möglich. Auch die Prognosen und Therapieformen sind daher unterschiedlich. Die höchste Priorität hat die Behandlung und Verhinderung des Wiederauftretens der Symptome. Die Therapieoptionen umfassen eine chirurgische Resektion bei drohender Obstruktion sowie Chemo- und Radiotherapien (Goldberg et al. 2013).

1.5.1 Aufbau der Skelettmuskulatur

Zu den Aufgaben der Skelettmuskeln zählen neben der Bewegung des Körpers zahlreiche weitere physiologische Prozesse, wie die Thermogenese, der Stoffwechsel sowie die Sekretion von Peptiden zur Kommunikation mit anderen Geweben (Csapo et al. 2020).

Als quergestreifte Muskulatur bestehen Skelettmuskeln aus vielschichtigen Strukturen, die sich von großen anatomischen Einheiten bis hin zu zellulären Komponenten erstrecken (s. *Abb. 4*) Grundeinheiten sind die Muskelbündel, die sich aus Muskelfasern zusammensetzen. Die von bindegewebigen Hüllen umgebenen Muskelfaserbündel schaffen eine räumliche Ordnung:

- Das Epimysium umgibt als äußerste Hülle den gesamten Muskel. Es besteht aus großen Kollagen-Bündeln, die strukturell denen in Sehnen gleichen (Gao et al. 2008). Die in den kollagenen Elementen des Epimysiums enthaltene Hyaluronsäure ermöglicht den Kollagen-Fasern im umliegenden Gewebe zu gleiten, wodurch die notwendige Mobilität entsteht (Wackerhage et al. 2018).
- Das Perimysium umschließt ein Bündel von Muskelfasern. Aufgrund der Nähe ist die Abgrenzung zum Endomysium komplex. Histologisch unterscheiden sich Endomysium und Perimysium. Das Perimysium enthält anders als das Endomysium Kollagen-Typ-I Fasern, die dem Gewebe die notwendige Festigkeit gegenüber auftretenden Zugkräften verleihen (Passerieux et al. 2007). Das Perimysium spielt eine Rolle bei der Kraftübertragung zwischen einzelnen Muskelfasern und trägt zur Stabilität der Anordnung der Faserbündel bei.
- Das Endomysium umhüllt als geordnetes Netzwerk einzelne Muskelfasern, wodurch sich die Reißfestigkeit des Muskels erhöht (Purslow und Trotter 1994).

Muskelfasern bestehen aus zahlreichen Myofibrillen, die wiederum aus hunderten von Sarkomeren aufgebaut sind. Das Sarkomer gilt als kleinste kontraktile Einheit. Kennzeichnend für die quergestreifte Muskulatur ist die unter dem Lichtmikroskop sichtbare abwechselnd hell (A-Bande) und dunkle (I-Bande) Querstreifung des Sarkomers. Skelettmuskelzellen bilden Synzytien mit bis zu mehreren 100 Zellkernen. Ein Synzytium besitzt eine Länge von mehreren mm / cm und eine Breite von 40–80 μm (Fürst und Schröder 2014).

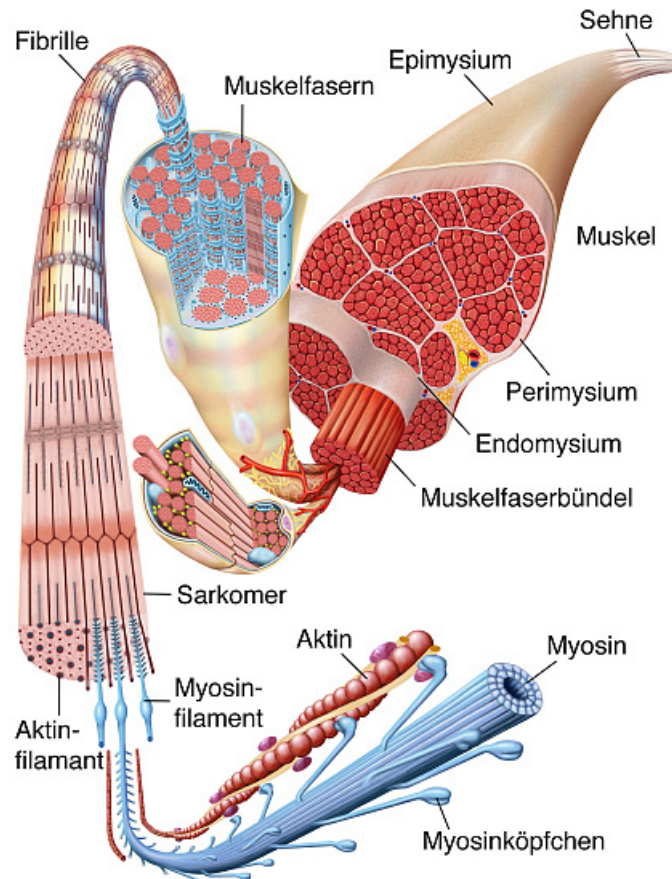


Abb. 4: Aufbau des Skelettmuskels

Strukturebenen des Muskels: kleinste kontraktile Einheit (Sarkomer), Myofibrillen, Muskelfasern und Muskelbündel (Altersberger und Geisler 2022).

1.5.2 Aufbau der Herzwand

Die Herzmuskulatur nimmt morphologisch eine Zwischenstellung zwischen der Skelettmuskulatur und der glatten Muskulatur ein (Stephenson et al. 2016). Die Herzwand lässt sich in Schichten unterteilen (s. Abb. 5).

- Die äußerste Schicht, das Epikard, besteht aus einer dünnen Bindegewebsschicht und enthält epitheliale Zellen, Blutgefäße und Nerven. Letztere versorgen das Herz.
- Das Myokard bildet den größten Anteil der Herzwand. Es besteht aus massiven, quergestreiften Muskelzellen, die durch Bindegewebe unterstützt und durch Blutgefäße versorgt werden. Das Myokard ist verantwortlich für die Kontraktion des Herzens und pumpt das Blut durch das kardiovaskuläre System.
- Die innerste Schicht der Herzwand, das Endokard, kleidet die Herzkammern und die Herzklappen aus. Die dünne Schicht aus Endothelzellen und Bindegewebe ermöglicht einen reibungsarmen Blutfluss durch das Herz (Whitaker 2010).

Im Mikroskop ist erkennbar, dass die Herzmuskulatur eine geordnete Struktur ähnlich die der Skelettmuskulatur aufweist. Die Herzmuskulatur besteht aus langen, über Glanzstreifen miteinander verbundenen Herzmuskelfasern. Anders als die Muskelzellen mit zahlreichen peripher liegenden Zellkernen besitzen die zylindrischen Herzmuskelzellen ein bis maximal zwei zentralgelegene Zellkerne (Arackal und Alsayouri 2023, Sommer und Waugh 1978).

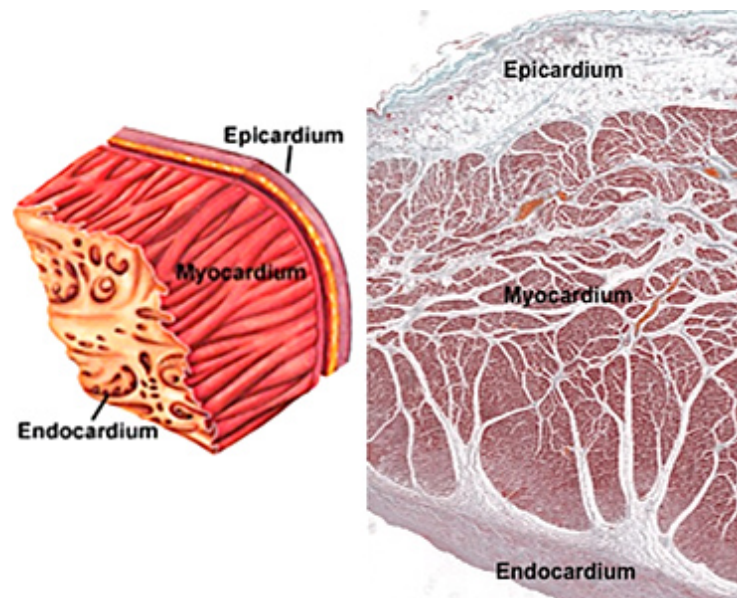


Abb. 5: Aufbau der Herzwand

Anatomische Schichten der Herzwand: Schematische Darstellung (links), mikroskopische Aufnahme (rechts) (Indiana University 2016)

2 Material und Methodik

2.1 Studiengenehmigung

Die vorliegende Dissertation wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg genehmigt. Die Genehmigung beinhaltete auch die Durchführung von Sektionen im Institut für Rechtsmedizin an den verstorbenen Probanden (Ethiknummer PV4982). Vor der Probenentnahme wurde den Angehörigen der verstorbenen Personen die Studie erläutert. Anschließend gaben sie ihr mündliches und schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der Studie sowie zur Verwendung der anonymisierten Daten für Forschungszwecke.

2.2 Patientenkollektiv

In dieser Dissertation wurden Muskelproben von 18 verstorbenen Patienten mit diagnostizierten epithelialen Tumoren (Tumorkohorte) und von 13 verstorbenen Patienten ohne Tumorerkrankung (Kontrollgruppe) gesammelt. Zwei Proben der Tumorkohorte und der Kontrollgruppe mussten aufgrund von mangelndem Material ausgeschlossen werden. Die Proben wurden im Zeitraum vom Mai 2021 bis Dezember 2022 gesammelt. Die Proben stammten von Patienten, die entweder im Universitätsklinikum Eppendorf (UKE) verstorben waren, oder die mit einem Rettungswagen ins Institut für Rechtsmedizin eingeliefert worden waren. Die demographischen und klinischen Daten (Alter, Geschlecht, Body Mass Index (BMI), Postmortales Intervall (PMI), Tumorentitäten, Metastasierung, Todesursache) entstammen den Sektionsberichten des Instituts für Rechtsmedizin am UKE und sind in *Tab. 3* bis *Tab. 5* zusammengefasst.

2.3 Detektion der disseminierten Tumorzellen (DTCs)

Wie in *Abb. 6* dargestellt, umfasst die Methodik aufeinander abgestimmte Schritte beginnend von der Probenentnahme bis hin zur Analyse und Auswertung.

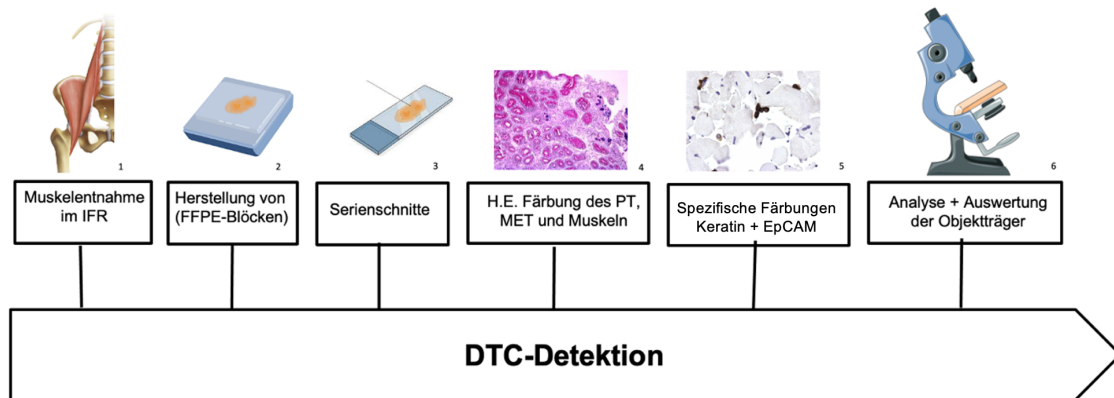


Abb. 6: Detektion der disseminierten Tumorzellen (DTCs)

Abkürzungen: IFR = Institut für Rechtsmedizin; FFPE = *Formalin-fixed paraffin-embedded*; H.E. = Hämatoxylin-Eosin; PT = Primärtumor; MET = Metastase; EpCAM = *Epithelial Cell Adhesion Molecule*

1. (Anderson 2016); 2.+3. (ClearLight Biotechnologies 2024); 4. (Reiter und Koslowski 2024) 5. (eigenes Bildmaterial); 6. (Art 2024)

2.3.1 Probenentnahme

Die Probenentnahme erfolgte durch Mitarbeiter des Instituts für Rechtsmedizin gemäß den Standardprotokollen (s. *Abb. 7*). Dabei wurden – soweit möglich – Proben des Primärtumors und der Metastasen entnommen. Zusätzlich erfolgte in beiden Untersuchungsgruppen eine Probenentnahme aus dem M. psoas rechts und links. Bei neun Verstorbenen der Kontrollgruppe und acht Verstorbenen der Tumorkohorte wurden darüber hinaus Proben aus dem M. papillaris (n = 17) entnommen. Bei je einem Verstorbenen der Tumorkohorte und der Kontrollgruppe wurde von der standardisierten Probenentnahme abgewichen und eine ultraschallgestützte Feinnadelbiopsie entnommen. Die Proben wurden in einer neutral gepufferten 4%-igen Formaldehyd-Lösung fixiert.

Anschließend wurden von den Proben Quer- und Längsschnitte angefertigt und in Trägerelemente für die Erstellung von *Formalin-Fixed Paraffin-Embedded* (FFPE) Blöcken gelegt. Die Trägerelemente wurden mit der Sektionsnummer des Verstorbenen beschriftet und zur weiteren Verarbeitung in die Pathologie übergeben.



Abb. 7: Abfolge der Probenentnahme

Ablauf der Probenentnahme aus dem Musculus (M.) psoas und dem M. papillaris im Institut für Rechtsmedizin am Universitätsklinikum Eppendorf (die Bilder wurden freundlicherweise von Frau Dr. Fitzek zur Verfügung gestellt).

2.3.2 *Formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) Blöcke und immunhistochemische Färbungen*

In der Pathologie des UKEs wurden die Trägerelemente der FFPE-Blöcke zur eindeutigen Identifizierung mit der jeweiligen Fallnummer, dem Barcode und der Blockbezeichnung bedruckt. Anschließend erfolgten die maschinelle Dehydrierung und das Einbetten in FFPE-Blöcke durch Mitarbeiter des Instituts. Die FFPE-Blöcke wurden in 2–4 µm dicke Scheiben geschnitten und im Anschluss gefärbt. Die Schnitte wurden wie folgt gefärbt:

- 1. Schnitt: Hämatoxylin-Eosin (H.E.) Färbung
- 2. und 20. Schnitt: pan-Keratin Färbungen (Antikörper: A1/A3)
- 3. Schnitt: EpCAM Färbung (Antikörper: Ber-EP4)

Leerschnitte (4.–19. Schnitt) wurden für mögliche Tumor-spezifische immunhistochemische Färbungen oder die Wiederholung von Färbungen aufbewahrt (s. Tab. 2). Bei den mit einer ultraschallgestützte Feinnadelbiopsie entnommenen Proben erfolgte zusätzlich die Tumor-spezifische immunhistochemischen Färbung von GATA 3 und ER.

Tab. 2: Verwendete Färbungen

Antikörper/Färbung	Firma	Bestellnummer
AE1/AE3	Dako Omnis	GA05361-2
Ber-EP4	Dako Omnis	IR63761-2
ER	Dako Omnis	GA08461-2
GATA 3	MS Validated Antibodies	2980-450M-01
H.E.-Färbung:		
- Hämalalaun nach Meyer	Merck	1.09249.2500
- Eosin 1 %	Roth	3137.2
- HCl-Alkohol 0,25 %	Sigma	07104

Abkürzungen: AE1/AE3 = Antikörper gegen Keratin; Ber-EP4 = Antikörper gegen EpCAM; ER = Östrogen-Rezeptor; GATA-3 = Transkriptionsfaktor; HCl = Salzsäure

2.3.3 Analyse der Objektträger

Die Proben wurden mit dem Mikroskop Axio Scope.A1 (Zeiss) ausgewertet. Primärtumoren und Metastasen wurden zunächst bei einer fünffachen Vergrößerung beurteilt. Zusätzlich wurden Bilder in zwanzig- und vierzigfacher Vergrößerung erstellt. Die Muskelproben wurden bei einer zwanzigfachen Vergrößerung analysiert. Von positiven Zellen wurden Bilder in zwanzig- und vierzigfacher Vergrößerung erstellt.

2.3.4 Auswertung der Objektträger

Die Proben der Primärtumoren und Metastasen wurden hinsichtlich des prozentualen Anteils der pan-Keratin- und EpCAM-positiven Zellen und deren Färbeintensität untersucht. In den Proben des Muskelgewebes wurden pan-Keratin- und EpCAM-positiv Einzelzellen und Cluster gezählt.

Die positiven Zellen in den Proben wurden auf der Grundlage ihrer Farbintensität, Morphologie und Lokalisation in die Kategorien "sicher", "fraglich" und "eher nicht" klassifiziert. Zur Bestätigung der positiven Ergebnisse erfolgte eine zweite Bewertung durch einen erfahrenen Pathologen. Die Bilder wurden auf einer Speicherplattform gesichert. Die positiven Zellen im Skelettmuskel wurden nach ihrer Lokalisation im Endomysium, Perimysium und Epimysium kategorisiert.

2.4 Statistische Analyse

Die statistische Analyse wurde mit dem Statistikprogramm SPSS durchgeführt. Die klinischen Parameter wurden aus der Datenbank des UKE und die Anamnese-Daten aus der Datenbank der Rechtsmedizin (UKE) entnommen.

Die Unterschiede beim Auftreten von Keratin- und EpCAM-positiven Zellen im Skelett- bzw. Herzmuskel in der Tumorkohorte und in der Kontrollgruppe wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test untersucht. Dabei wurden Keratin- und EpCAM-positive Einzelzellen, Keratin- und EpCAM-positiv Einzelzellen + Cluster sowie der Gesamtanzahl Keratin- und EpCAM-positiver Zellen berücksichtigt.

Für die Identifizierung eines möglichen Zusammenhangs zwischen der Gesamtanzahl Keratin- und EpCAM-positiver Zellen und dem postmortalen Intervall (PMI, Zeitraum zwischen Tod und Probennahme) wurde eine Korrelationsanalyse nach Pearson durchgeführt. Der Korrelationskoeffizient (r) kann dabei Werte zwischen -1 und 1 annehmen. Negative Werte deuten auf einen inversen Zusammenhang hin. Werte in der Nähe von -1 bzw. 1 kennzeichnen eine starke Korrelation; Werte in der Nähe von 0 dagegen einen schwachen Zusammenhang.

Die statistische Signifikanz wurde bei einem p-Wert von $< 0,05$ angenommen.

3 Ergebnisse

Zur Beantwortung der Fragestellung, ob DTCs immunhistochemisch in histologischen Präparaten von verstorbenen Patienten nachweisbar sind, wurden Proben von verstorbenen Personen mit und ohne einer bekannten Tumorerkrankung entnommen und immunhistochemisch gefärbt. Von den 31 Verstorbenen, bei denen im Zeitraum vom Mai 2021 bis zum Dezember 2022 eine Sektion im Institut für Rechtsmedizin am UKE durchgeführt wurde, wurden 27 Verstorbene in die Arbeit eingeschlossen. Die in einer Excel-Tabelle aufgeführten anonymisierten Patientendaten umfassten das Patientenpseudonym, das PMI, die Tumorentität, die Lokalisation der Metastase, das Geschlecht, das Alter und den BMI. In der Kontrollgruppe wurde zusätzlich die Todesursache dokumentiert.

3.1 Demographische und Tumor-assoziierte Daten der Tumorkohorte

Unter den 16 Personen der Tumorkohorte befanden sich zehn Männer und sechs Frauen. Die Altersspanne reichte von 48 bis 88 Jahren; das Durchschnittsalter betrug 71 Jahre (s. *Tab. 4*). Im Mittel lag das PMI bei 153 Stunden. Der BMI der Verstorbenen betrug im Mittel 22 kg/m^2 . In der Tumorkohorte wurden elf Tumorentitäten und sieben verschiedene Lokalisationen der Metastasierung festgestellt. Am häufigsten war die Leber gefolgt von der Lunge von Metastasen betroffen (s. *Tab. 3*: Überblick über die Tumorerkrankungen

Tab. 3: Überblick über die Tumorerkrankungen in der Tumorkohorte

ID	PMI [h]	Primärtumor	Lokalisation der Metastasen
1	168	Harnblasenkarzinom	Lunge
2	96	neuroendokrines Karzinom (CUP)	Leber
3	144	Urothelkarzinom	Lunge
4	408	Bronchialkarzinom	Nebenniere
5	48	Bronchialkarzinom	k. A.
6*	120	Bronchialkarzinom	Hirn
7	528	Harnblasenkarzinom	Leber
8	192	Harnblasenkarzinom	Leber
9*	48	Plattenepithelkarzinom	Lunge
10*	48	Hepatozelluläres Karzinom	k. A.
11*	72	Paraganglion	Knochen, Nieren, Lymphknoten, Kleinhirn
12*	72	Appendix vermiformis Karzinom	Leber, Peritonealkarzinose
13*	120	distales Ösophaguskarzinom	Leber, Wirbelsäule
14*	288	Adenokarzinom (CUP)	Leber, Lunge
15*	72	Mammakarzinom	Leber, Lunge, Knochen
16	24	Mammakarzinom	k. A.

Abkürzungen: ID = Identifikationsnummer der Verstorbenen; ID* = zusätzliche Entnahme des Pappillarmuskels; PMI [h] = postmortales Intervall in Stunden (Zeitraum zwischen dem tödlichen Ereignis und der Sektion); CUP = Cancer of unknown Primary; k. A. = keine Angabe

Tab. 4: Demographische Daten der Verstorbenen der Tumorkohorte

ID	Geschlecht	Alter [Jahre]	Body-Mass-Index (BMI) [kg/m ²]
1	W	67	k. A.
2	M	75	33,4
3	M	82	24,6
4	M	58	18
5	M	60	k. A.
6*	M	74	k. A.
7	M	88	19,3
8	W	48	15,4
9*	M	84	20,7
10*	M	79	23,2
11*	M	60	23,3
12*	M	48	24,1
13*	W	76	20,2
14*	W	76	28,6
15*	W	79	21,6
16	W	84	18,5

Abkürzungen: ID = Identifikationsnummer der Verstorbenen; ID* = zusätzliche Entnahme des Papillarmuskels; k. A. = keine Angabe (fehlende Angaben zu Gewicht und Größe); M = männlich; W = weiblich

3.2 Demographische Daten und Todesursache in der Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe setzte sich aus zehn Männern und einer Frau zusammen. In dieser Gruppe betrug das PMI im Mittel 67 Stunden. Die Verstorbenen waren zwischen 27 bis 89 Jahre alt; das Durchschnittsalter betrug 67 Jahre. Der BMI der Verstorbenen lag im Durchschnitt bei 27 kg/m² (s. Tab. 5).

Tab. 5: Kontrollgruppe: Todesursache und demographische Daten

ID	PMI [h]	Todesursache	Ge-schlecht	Alter	BMI [kg/m ²]
17*	48	Pneumonie, gastrointestinale Blutung, palliativer Gesamtzustand, kleiner recht-ventrikulärer Infarkt	M	62	k. A.
18*	72	linksführende kardiale Dekompensation bei Hirnmassenblutung, Drogenkonsum	M	37	28,2
19*	96	kardio-respiratorisches Versagen bei akut eitriger Bronchitis und chron. Herzerkrankung, Herzinfarkt, Prostataentfernung	M	89	30,9
20*	72	zentrale Einklemmung bei Hirnblutung, akuter Hirninfarkt	M	64	28,3
21*	120	Zeichen einer Vergiftung, chronisch entzündliche Darmerkrankung, chronische Herzleistungsschwäche	M	27	28
22	96	akute eitrig Bronchopneumonie	M	80	37,2
23	24	Suizid durch Erhängen	M	58	23,5
24*	F*	mehrfaches Schädel Hirn Trauma und mechanisches Ersticken	W	79	21,2
25*	F*	Suizid durch Erhängen	M	75	24,7
26*	25	septisches Multiorganversagen bei chronisch akuter Niereninsuffizienz und fragliches Myokardinfarktrezidiv	M	83	k. A.
27*	48	(Aspirations) Pneumonie	M	84	20,8

Abkürzungen: ID = Identifikationsnummer der Verstorbenen; ID* = zusätzliche Entnahme des Papi-larmuskels; PMI [h] = postmortales Intervall in Stunden (Zeitraum zwischen dem tödlichen Ereignis und der Sektion); F*= Zeitraum zwischen Auffindedatum bis zur Obduktion 9 h (Todeszeitpunkt unbekannt); M = männlich; W = weiblich; k. A. = keine Angabe (fehlende Angaben zu Gewicht und Größe); BMI = Body-Mass-Index

3.3 Anzahl der DTCs im Skelettmuskel der Verstorbenen der Tumorkohorte

In der Tumorkohorte konnten über die Antikörper gegen Keratin (AE1/AE3) in 14 von 16 Skelettmuskelproben (87,5%) DTCs nachgewiesen werden (s. Tab. 6). Cluster-Ansammlungen von Keratin-positiven DTCs waren mit 6,25 % (1 von 16 Proben) deutlich seltener. Im Durchschnitt wurden pro Verstorbenen 3,9 Keratin-positive DTCs gefunden. Die Spanne der Anzahl einzelner Keratin-positiver DTCs reichte von 0 bis 16 Zellen. Keratin-positive Cluster-Ansammlungen wurden durchschnittlich 0,06-mal pro Verstorbenen dokumentiert. Hierbei lag die Spanne zwischen 0 und 1.

Tab. 6: Keratin-(CK)- und Epithelial Cell Adhesion Molecule-(EpCAM)-positive Zellen und Cluster im Skelettmuskel (Musculus psoas) der Krebskohorte

ID	Keratin-positive Zellen			EpCAM-positive Zellen		
	Einzelzellen	Einzelzellen + Cluster	Gesamtzahl der Zellen	Einzelzellen	Einzelzellen + Cluster	Gesamtzahl der Zellen
1	2	2	2	0	1	3
2	0	0	0	1	1	1
3	3	4	42	0	0	0
4	5	5	5	0	1	4
5	0	0	0	0	0	0
6	1	1	1	0	0	0
7	5	5	5	1	2	5
8	0	0	0	0	0	0
9	3	3	3	0	0	0
10	6	6	6	0	0	0
11	16	16	16	0	1	17
12	4	4	4	0	0	0
13	6	6	6	2	3	6
14	1	1	1	1	1	1
15	3	3	3	2	2	2
16*	8	8	8	2	3	6
Total	63	64	102	9	15	45

Die mit * markierte ID kennzeichnet die Probe, die abweichend von den anderen Proben mit einer Ultraschalltechnik entnommen wurde.; ID = Identifikationsnummer der Verstorbenen

Weiter wurden mit dem Antikörper gegen EpCAM (Ber-EP4) durchschnittlich 0,6 DTCs pro Verstorbenen nachgewiesen. Die Anzahl EpCAM-positiver Zellen war deutlich geringer als die Anzahl Keratin-positiver Zellen (3,9 pro Verstorbenen). Auch die Spanne EpCAM-positiver Zellen (0–2) war im Vergleich zur Spanne Keratin-positiver Zellen (0–16) kleiner. Die Anzahl der detektierten EpCAM-positiven Cluster überschritt dagegen mit durchschnittlich 0,31 (Spanne 0–1) pro Patient deutlich die Anzahl Keratin-positiver Cluster (0,06). In den nachfolgenden *Abbildungen 8* und *9* sind beispielhaft Aufnahmen der immunhistochemischen Färbungen der Proben des M. psoas der Tumorkohorte mit den Antikörpern gegen Keratin und EpCAM dargestellt.

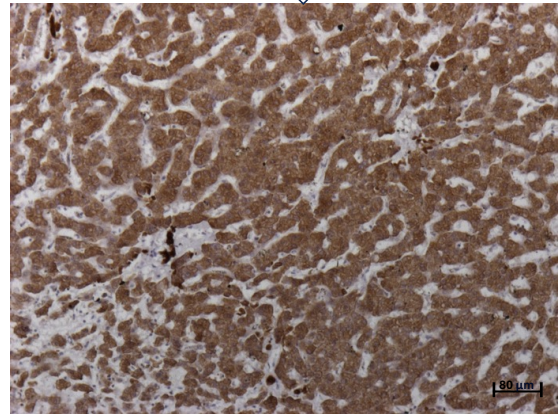
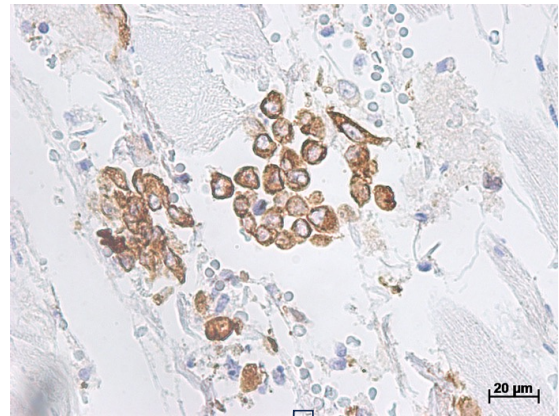
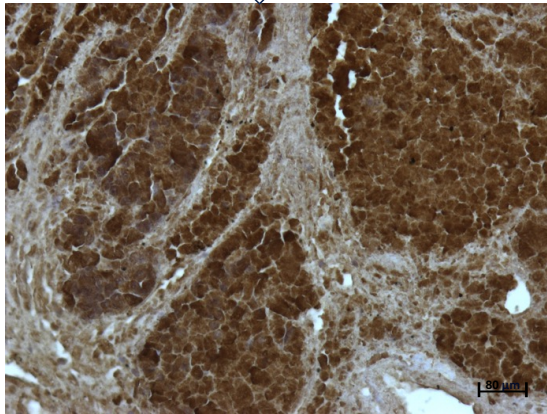
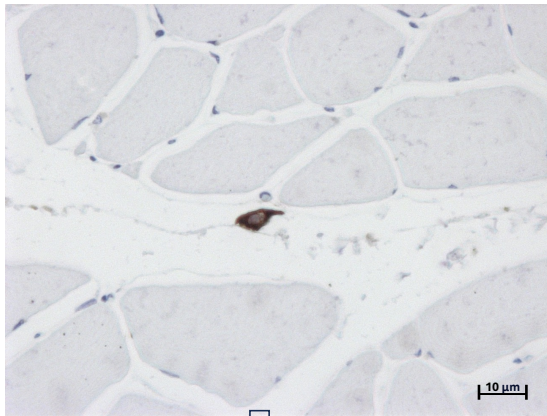


Abb. 8: Keratin-positive Einzelzellen (oben links) und Cluster (oben rechts) im Musculus psoas und in der Metastase (unten) bei einem Verstorbenen der Tumorkohorte

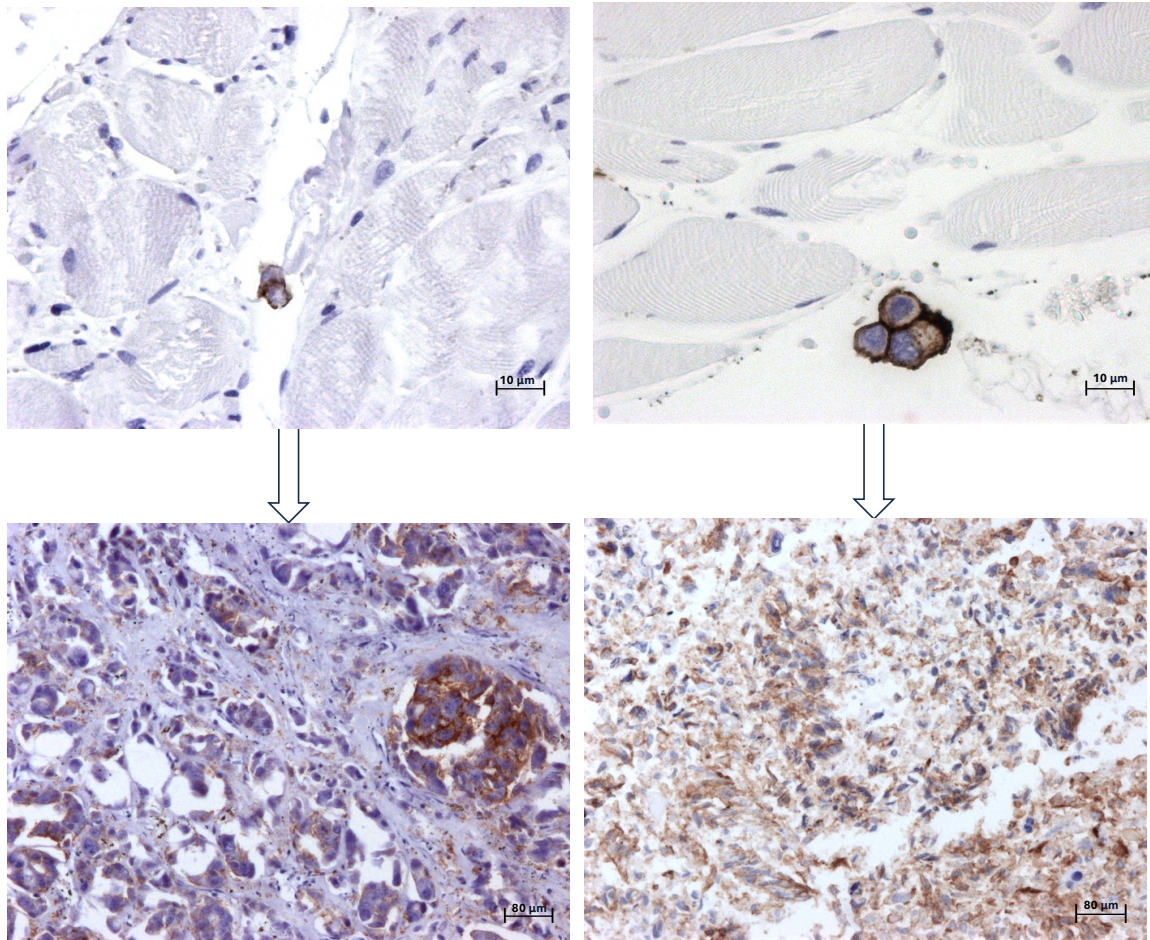


Abb. 9: Epithelial Cell Adhesion Molecule-(EpCAM)-positive Einzelzellen (oben links) und Cluster (oben rechts) im Musculus psoas und in der Metastase (unten) bei einem Verstorbenen der Tumorkohorte

3.4 Anzahl der DTCs im Skelettmuskel der Verstorbenen der Kontrollgruppe

Auch in der Kontrollgruppe mit Verstorbenen ohne bekannte Tumorerkrankungen waren in den Proben aus dem M. psoas mit dem Antikörper AE1/AE3 Keratin-positive Zellen nachweisbar (s. Tab. 7). Die Anzahl der Keratin-positiven Zellen war im Vergleich zur Anzahl in den Proben der Tumorkohorte jedoch deutlich geringer. In 9 von 11 Proben (81,82 %) der Kontrollgruppe waren Keratin-positive Zellen nachweisbar. Im Schnitt wiesen die Proben 1,5 Keratin-positive Zellen pro Verstorbenen auf. Die Häufigkeit war damit im Vergleich zu den Proben der Tumorkohorte um 61,54 % geringer. Die Spanne der Anzahl der Keratin-positiven DTCs reichte in der Kontrollgruppe von 0–4. Die durchschnittliche Detektionsrate

Keratin-positiver Cluster pro Verstorbenen war bei insgesamt niedrigem Niveau in der Kontrollgruppe mit 0,18 geringfügig höher als in Tumorkohorte (0,06). Die Spanne der Cluster-Häufigkeit betrug in der Kontrollgruppe (0–2) und in der Tumorkohorte (0–1).

Tab. 7: Keratin-(CK)- und *Epithelial Cell Adhesion Molecule*-(EpCAM)-positive Zellen und Cluster im Skelettmuskel (*Musculus psoas*) der Kontrollgruppe

ID	Keratin-positive Zellen			EpCAM-positive Zellen		
	Einzelzellen	Einzelzellen + Cluster	Gesamtzahl der Zellen	Einzelzellen	Einzelzellen + Cluster	Gesamtzahl der Zellen
17	1	1	1	0	0	0
18	1	1	1	0	0	0
19	2	2	2	0	0	0
20	4	4	4	0	0	0
21	1	1	1	0	0	0
22	1	1	1	0	0	0
23*	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0
25	3	3	3	0	0	0
26	3	4	10	0	0	0
27	1	2	4	0	0	0
Total	17	19	27	0	0	0

Die mit * markierte ID kennzeichnet die Probe, die abweichend von den anderen Proben mit einer Ultraschalltechnik entnommen wurde.; ID = Identifikationsnummer der Verstorbenen

In der Kontrollgruppe waren im *M. psoas* keine EpCAM-positiven Einzelzellen oder Cluster nachweisbar. In *Abbildung 10* sind beispielhaft Aufnahmen der immunhistochemischen Färbungen der Proben des *M. psoas* der Kontrollgruppe mit den Keratin-Antikörpern dargestellt.

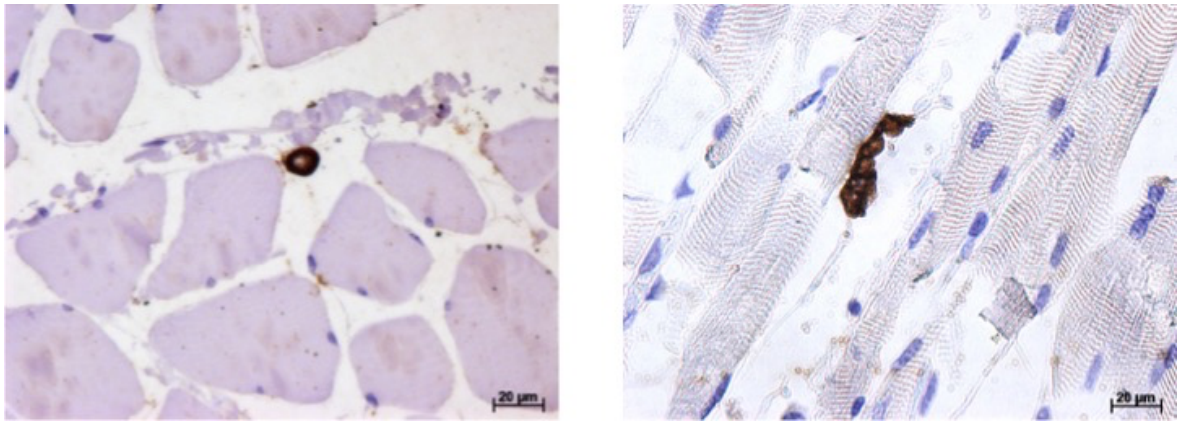


Abb. 10: Keratin-positive Einzelzelle (links) und Cluster (rechts) im Musculus psoas bei einem Verstorbenen der Kontrollkohorte

3.5 Immunhistochemische Analyse der mittels Feinnadelbiopsie gewonnenen Proben

Bei dem Verstorbenen mit der Identifikationsnummer 16 (Tumorkohorte) und 23 (Kontrollgruppe), bei denen die Proben mit der Ultraschalltechnik entnommen wurden, wurden neben den Standardfärbungen zusätzliche immunhistochemische Färbungen durchgeführt (s. *Abb. 11*). Bei dem Verstorbenen der Kontrollgruppe wurden bei den immunhistochemischen Färbungen keine positiven Zellen detektiert.

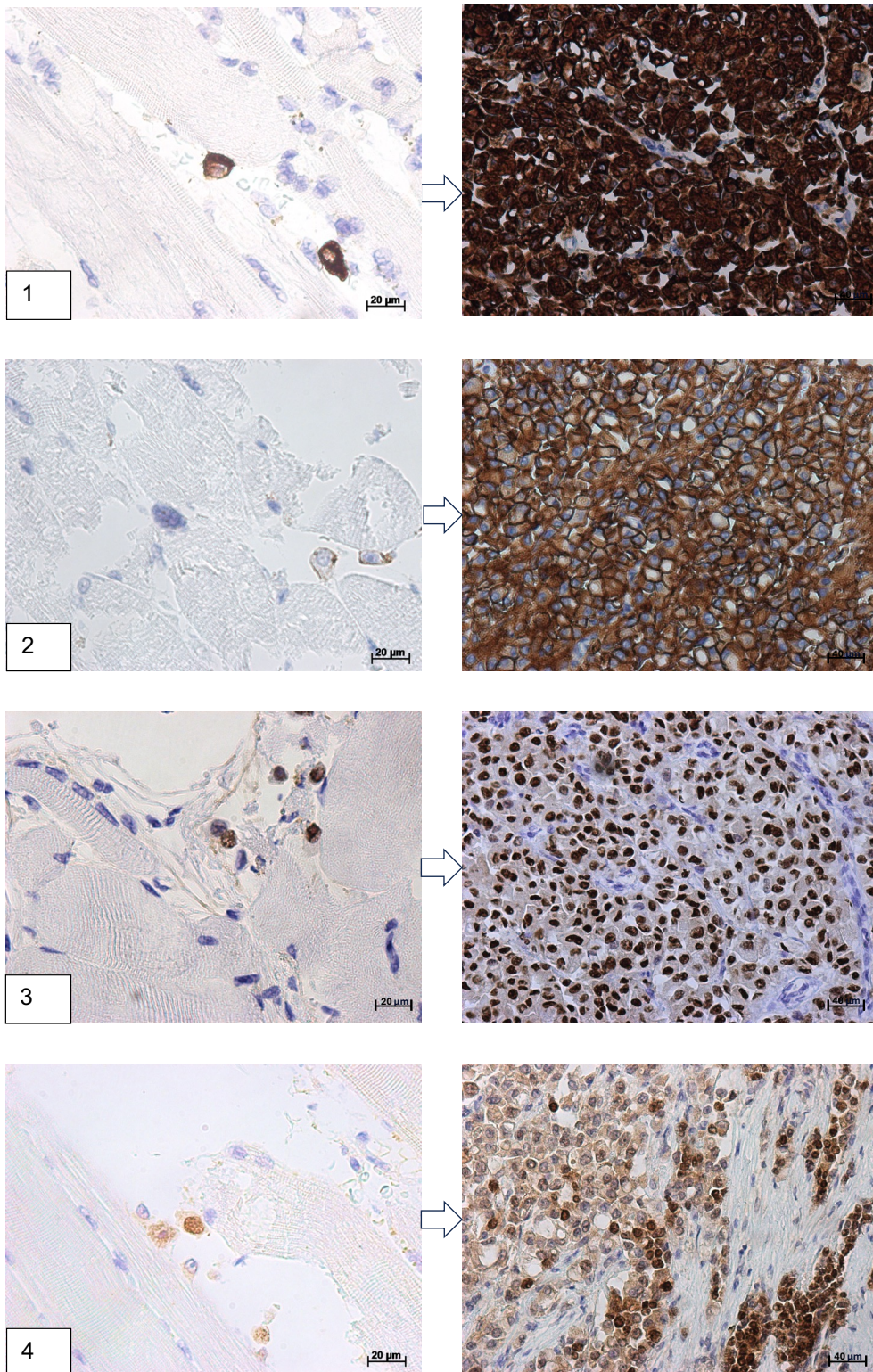


Abb. 11: Immunhistochemischer Nachweis von Keratin (1), *Epithelial Cell Adhesion Molecule* (EpCAM, 2), des Östrogen-Rezeptors (ER, 3) und des Transkriptionsfaktors GATA-3 (4) – positive Einzelzellen im Musculus psoas (linke Spalte) und Primärtumor (rechte Spalte) bei dem Verstorbenen mit der Identifikationsnummer 16

3.6 Lokalisation der Keratin- und EpCAM-positiven Zellen und Cluster im Skelettmuskel

Zusätzlich wurde die Lage der Keratin- und EpCAM-positiven Zellen und Cluster im Skelettmuskel (Endo-, Peri, Epimysium, s. Kapitel 1.5.1) analysiert. Nicht alle Zellen waren eindeutig lokalisierbar. Von den Muskelproben wurden Längs- und Querschnitte angefertigt und in Paraffin eingebettet. Eine eindeutige Lokalisation war nur in quergeschnittenen Präparaten möglich. *Tabelle 8* fasst die Befunde zur Lokalisation der Keratin- und EpCAM-positiven Zellen und Cluster im M. psoas zusammen.

Tab. 8: Lokalisation der Keratin-(CK)- und *Epithelial Cell Adhesion Molecule*-(EpCAM)-positiven Zellen und Cluster im Skelettmuskel (Musculus psoas) der Tumorkohorte

ID	Keratin				EpCAM			
	Endo- mysium	Perimy- sium	Epimy- sium	zuorden- bar	Endo- my- sium	Perimy- sium	Epimy- sium	zuorden- bar
1	0	2	0	2/2	0	1	0	1/3
2	0	0	0	0/0	0	1	0	1/1
3	0	0	1	1/42	0	0	0	0/0
4	0	2	1	3/5	0	0	0	0/4
5	0	0	0	0/0	0	0	0	0/0
6	0	0	1	1/1	0	0	0	0/0
7	0	2	2	4/5	1	1	0	2/5
8	0	0	0	0/0	0	0	0	0/0
9	0	1	0	1/3	0	0	0	0/0
10	0	1	0	1/6	0	0	0	0/0
11	4	1	0	5/16	0	0	0	0/17
12	0	3	0	3/4	0	0	0	0/0
13	0	2	2	4/6	0	6	0	6/6
14	0	0	1	1/1	0	1	0	1/1
15	0	0	0	0/3	2	0	0	2/2
16*	0	1	0	1/8	0	2	0	2/6
To- tal	4	15	8	27/102	3	12	0	15/45

Die mit * markierte ID kennzeichnet die Probe, die abweichend von den anderen Proben mit einer Ultraschalltechnik entnommen wurde. ID = Identifikationsnummer der Verstorbenen

Nur etwa ein Viertel der Keratin-positiven Zellen war zweifelsfrei lokalisierbar. Insbesondere Cluster mit zahlreichen positiven Zellen und Cluster in den Längsschnitten waren nicht eindeutig zuordenbar. Über die Hälfte (55,56 %) der Keratin-positiven Zellen und Cluster lagen im mittleren Kompartiment des Muskels (Perimysium). Am seltensten waren Keratin-positiv Zellen und Cluster im inneren Kompartiment des Muskels (Endomysium)

nachweisbar (14,81 %). 29,63 % der Keratin-positiven Zellen und Cluster lagen im äußeren Bereich des Muskels (Epimysium).

Von den EpCAM-positiven Zellen und Clustern konnte etwa ein Drittel den Muskelkompartimenten zugeordnet werden. Die meisten EpCAM-positiven Zellen und Cluster (80 %) lagen im Perimysium. Die restlichen EpCAM-positiven Zellen und Cluster (20 %) lagen im Endomysium. Im Epimysium waren keine EpCAM-positiven Zellen und Cluster nachweisbar.

Die *Abbildungen 12* und *13* zeigen beispielhaft Keratin- und EpCAM-positive Zellen in den verschiedenen Kompartimenten des M. psoas.

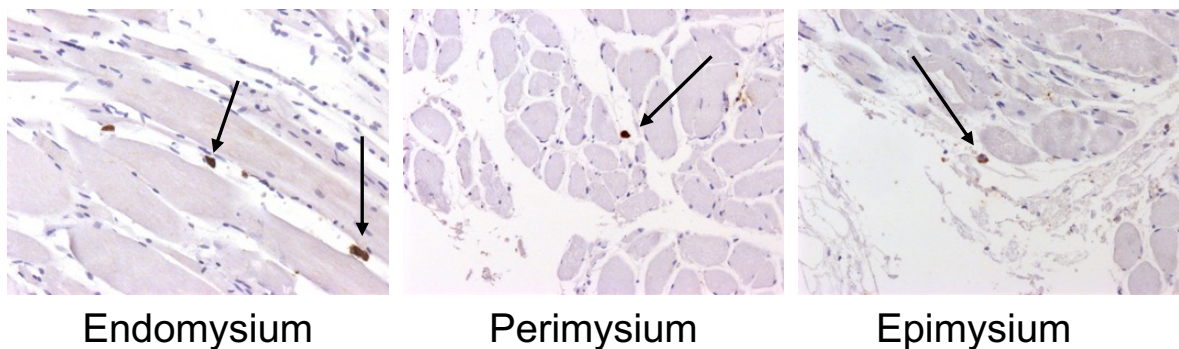


Abb. 12: Keratin-(CK)-positive Zellen im Endo-, Peri- und Epimysium des Musculus psoas bei Verstorbenen der Tumorkohorte

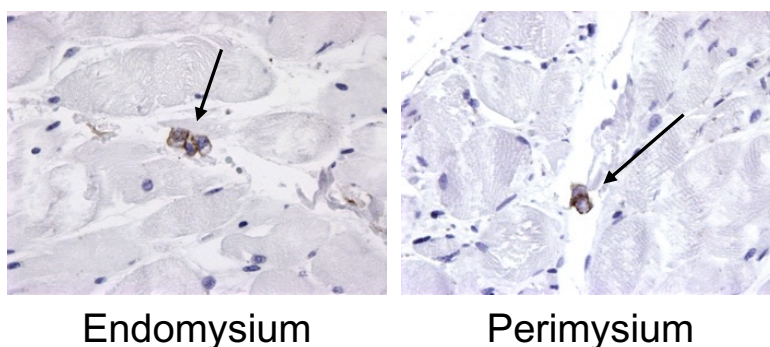


Abb. 13: Epithelial Cell Adhesion Molecule-(EpCAM)-positive Zellen im Endo- und Perimysium des Musculus psoas bei Verstorbenen der Tumorkohorte

Tabelle 9 fasst die Befunde zur Lokalisation der Keratin- und EpCAM-positiven Zellen und Cluster im M. psoas in der Kontrollgruppe zusammen.

Tab. 9: Lokalisation der Keratin-(CK)- und *Epithelial Cell Adhesion Molecule*-(EpCAM)-positiven Zellen und Cluster im Skelettmuskel (Musculus psoas) der Kontrollgruppe

ID	Keratin				EpCAM		
	Endomy- sium	Perimy- sium	Epimy- sium	zuor- den- bar	Endomy- sium	Perimy- sium	Epimy- sium
17	0	0	0	0/1	0	0	0
18	0	0	1	1/1	0	0	0
19	1	0	1	2/2	0	0	0
20	0	2	2	4/4	0	0	0
21	0	0	0	0/1	0	0	0
22	0	0	1	1/1	0	0	0
23*	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0
25	0	2	0	2/3	0	0	0
26	1	1	0	2/10	0	0	0
27	3	1	0	4/4	0	0	0
To- tal	5	6	5	16/27	0	0	0

Die mit * markierte ID kennzeichnet die Probe, die abweichend von den anderen Proben mit einer Ultraschalltechnik entnommen wurde. ID = Identifikationsnummer der Verstorbenen

In der Kontrollgruppe konnten 59 % der Keratin-positiven Zellen und Cluster lokalisiert werden. Die Zellen verteilten sich relativ gleichmäßig über die drei anatomischen Kompartimente (Epimysium: 31,25 %, Perimysium: 37,5 %, Endomysium 31,25 %) (s. *Tab. 9: Lokalisation der Keratin-(CK)- und Epithelial Cell Adhesion Molecule*-(EpCAM)-positiven Zellen und Cluster im Skelettmuskel (Musculus psoas) der). Im Perimysium waren Keratin-positive Zellen und Cluster geringfügig häufiger nachweisbar. Aufgrund des fehlenden Nachweises EpCAM-positiver Zellen oder Cluster war keine räumliche Zuordnung möglich. *Abbildung 14* zeigt beispielhaft Keratin-positive Zellen in den verschiedenen Kompartimenten des M. psoas.

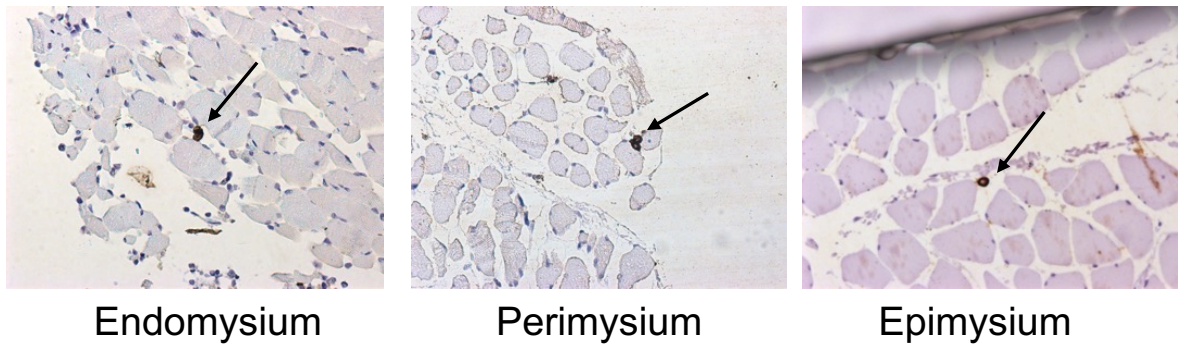


Abb. 14: Keratin-(CK)-positive Zellen im Endo-, Peri- und Epimysium des Musculus psoas bei Verstorbenen der Kontrollgruppe

3.7 Anzahl der DTCs im Herzmuskel der Tumorkohorte

Bei acht der 16 Verstorbenen der Tumorkohorte wurden zusätzlich Proben aus dem M. papillaris entnommen (s. Tab. 10: Keratin-(CK)- und *Epithelial Cell Adhesion Molecule*- (EpCAM)-positive Zellen und Cluster im Herzmuskel (Musculus papillaris) der Tumorkohorte. Im Durchschnitt waren in den Proben 1,6 Keratin-positive DTCs pro Verstorbenen nachweisbar. Die Spanne der Anzahl Keratin-positiver Zellen reichte von 0–5. Cluster Keratin-positiver Zellen kamen im Vergleich zum Skelettmuskel im Herzmuskel (0,43 zu 0,06) deutlicher häufiger vor. Die Spanne der Anzahl Keratin-positiver Cluster betrug 0–2. EpCAM-positive Zellen und Cluster waren im Herzmuskel nicht nachweisbar.

Tab. 10: Keratin-(CK)- und *Epithelial Cell Adhesion Molecule*-(EpCAM)-positive Zellen und Cluster im Herzmuskel (Musculus papillaris) der Tumorkohorte

ID	Keratin-positive Zellen			EpCAM-positive Zellen		
	Einzelzellen	Einzelzellen + Cluster	Gesamtzahl der Zellen	Einzelzellen	Einzelzellen + Cluster	Gesamtzahl der Zellen
6	4	5	7	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	1	1	1	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0
13	1	3	12	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0
15	5	5	5	0	0	0
Total	11	14	25	0	0	0

ID = Identifikationsnummer der Verstorbenen

In *Abbildung 15* sind beispielhaft Aufnahmen der immunhistochemischen Färbungen der Proben des M. papillaris der Tumorkohorte mit Antikörpern gegen Keratin dargestellt.

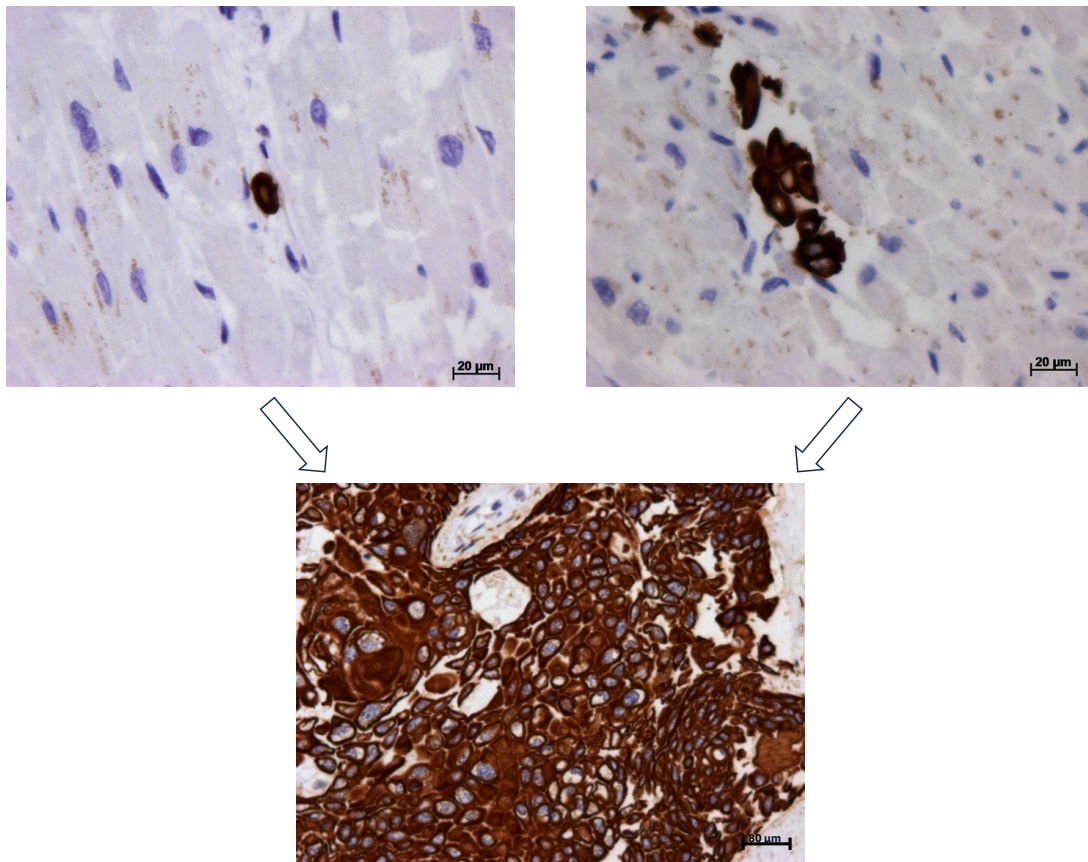


Abb. 15: Keratin-positive Einzelzellen (oben links) und Cluster (oben rechts) im Musculus papillaris und in der Metastase (unten) bei einem Verstorbenen der Tumorkohorte

3.8 Anzahl der DTCs im Herzmuskel der Kontrollkohorte

In den Herzmuskelproben der neun Verstorbenen der Kontrollkohorte waren keine Keratin- bzw. EpCAM-positive Einzelzellen oder Cluster nachweisbar.

3.9 Vergleich der Häufigkeit des Auftretens von DTCs in der Tumorkohorte und in der Kontrollgruppe

Mögliche Unterschiede bei der Häufigkeit des Auftretens von DTCs in der Tumorkohorte und in der Kontrollgruppe wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben überprüft.

Abbildung 16 veranschaulicht die Verteilung der Häufigkeit des Auftretens von Keratin-positiven Einzelzellen, Einzelzellen + Cluster und die Gesamtzahl Keratin-positiver Zellen im Skelettmuskel bei den Verstorbenen der beiden Untersuchungsgruppen. Deutlich wird, dass in der Tumorkohorte im Vergleich zur Kontrollgruppe tendenziell mehr Keratin-positive Zellen nachgewiesen werden konnten. Die statistische Analyse ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Untersuchungsgruppen (Mann-Whitney-U-Test: Keratin-positive Einzelzellen: $p = 0,089$; Einzelzellen + Cluster: $p = 0,071$; Gesamtzahl Keratin-positiver Zellen: $p = 0,212$). Der Unterschied beim Auftreten von Keratin-positiven Einzelzellen und Clustern in der Tumorkohorte im Vergleich zur Kontrollgruppe verfehlte jedoch nur knapp das festgelegte Signifikanzniveau.

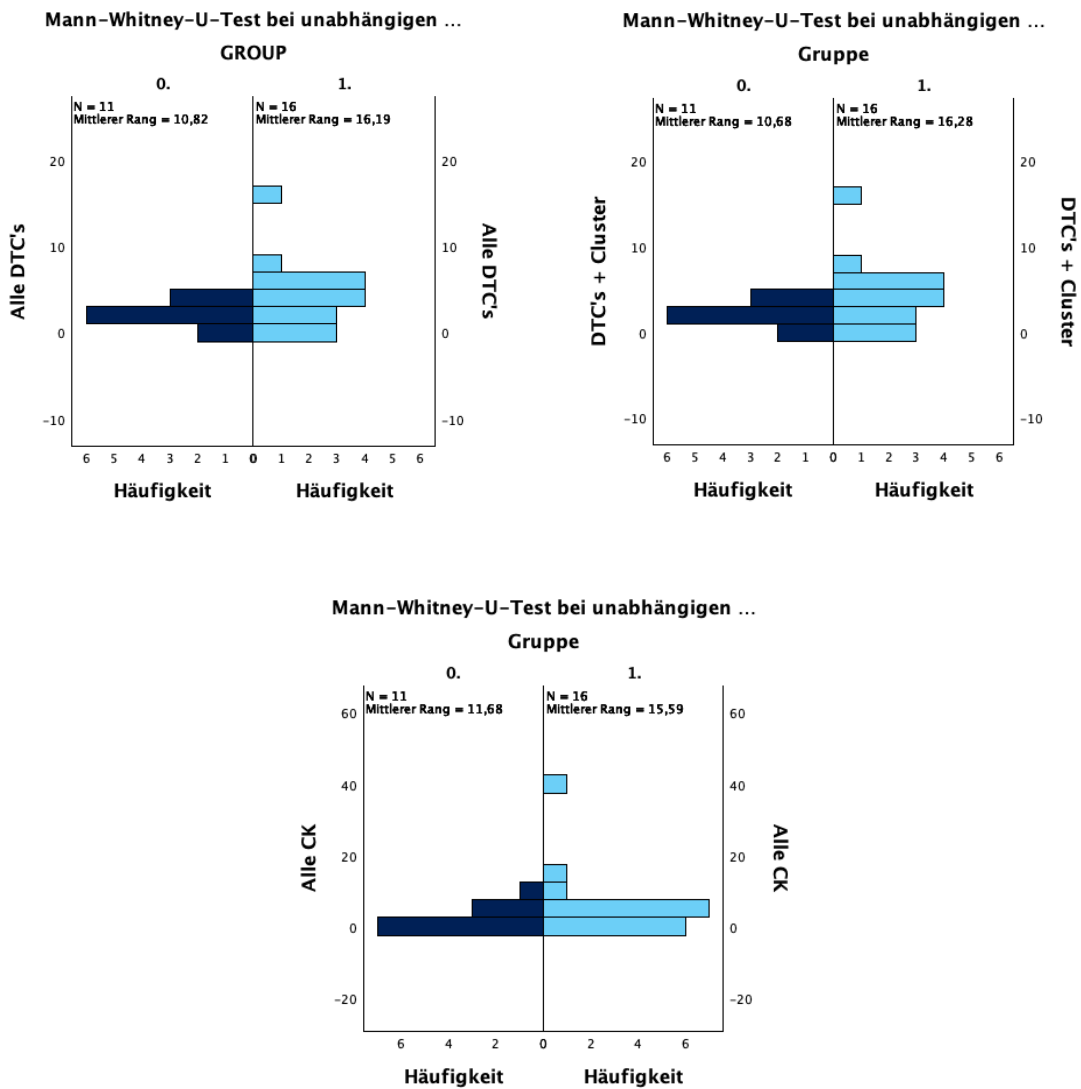


Abb. 16: Verteilung des Auftretens von Keratin-(CK)-positiven DTCs im Skelettmuskel der Tumorkohorte (Gruppe 1, hellblau) und der Kontrollgruppe (Gruppe 0, dunkelblau) – Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben

Die Y-Achse zeigt die Anzahl der DTCs, die X-Achse die Häufigkeit ihres Auftretens (Anzahl der Verstorbenen). Alle DTCs: Keratin-positive Einzelzellen; DTCs + Cluster: Keratin-positive Einzelzellen + Cluster; Alle-CK: Gesamtanzahl aller Keratin-positiven Zellen. DTCs = disseminierte Tumorzellen

Hinsichtlich des Auftretens von EpCAM-positiven Zellen waren die Unterschiede zwischen der Tumorkohorte und Kontrollgruppe deutlicher (s. Abb. 17). Die statistische Analyse mit dem Mann-Whitney-U-Test ergab für die Summe der EpCAM-positiven Einzelzellen + Cluster ($p = 0,013$) sowie für die Gesamtzahl positiver EpCAM-Zellen ($p = 0,013$) signifikante Unterschiede zwischen den beiden Untersuchungsgruppen. Dagegen war das Auftreten

von EpCAM-positiven Zellen in der Tumorkohorte und Kontrollgruppe nicht signifikant verschieden ($p = 0,110$).

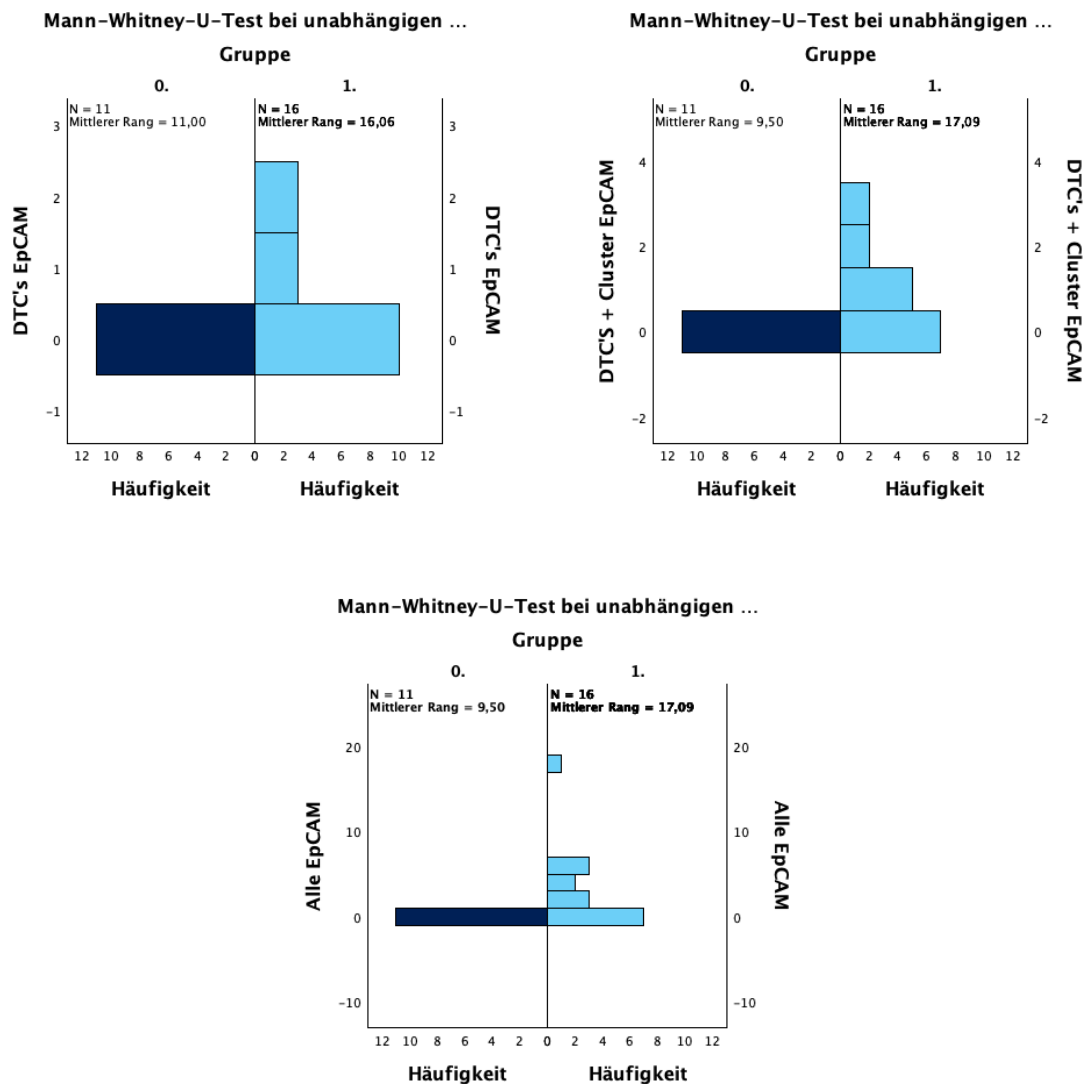


Abb. 17: Verteilung des Auftretens von Epithelial Cell Adhesion Molecule-(EpCAM)-positiven DTCs im Skelettmuskel der Tumorkohorte (Gruppe 1, hellblau) und der Kontrollgruppe (Gruppe 0, dunkelblau) – Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben

Die Y-Achse zeigt die Anzahl der DTCs, die X-Achse die Häufigkeit ihres Auftretens (Anzahl der Verstorbenen). Alle DTCs: EpCAM-positive Einzelzellen; DTCs + Cluster: EpCAM-positive Einzelzellen + Cluster; Alle-EpCAM: Gesamtanzahl aller EpCAM-positiven Zellen. DTCs = disseminierte Tumorzellen

Im Herzmuskel waren keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Auftretens Keratin-positiver Zellen zwischen der Tumorkohorte und der Kontrollgruppe nachweisbar (Mann-Whitney-U-Test: Keratin-positive Einzelzellen: $p = 0,093$; Einzelzellen + Cluster: $p = 0,423$;

Gesamtzahl Keratin-positiver Zellen: $p = 0,093$). Jedoch ließ sich bei den Keratin-positiven Einzelzellen und bei der Gesamtzahl Keratin-positiver Zellen eine Tendenz in Richtung eines vermehrten Auftretens in der Tumorkohorte erkennen (s. Abb. 18).

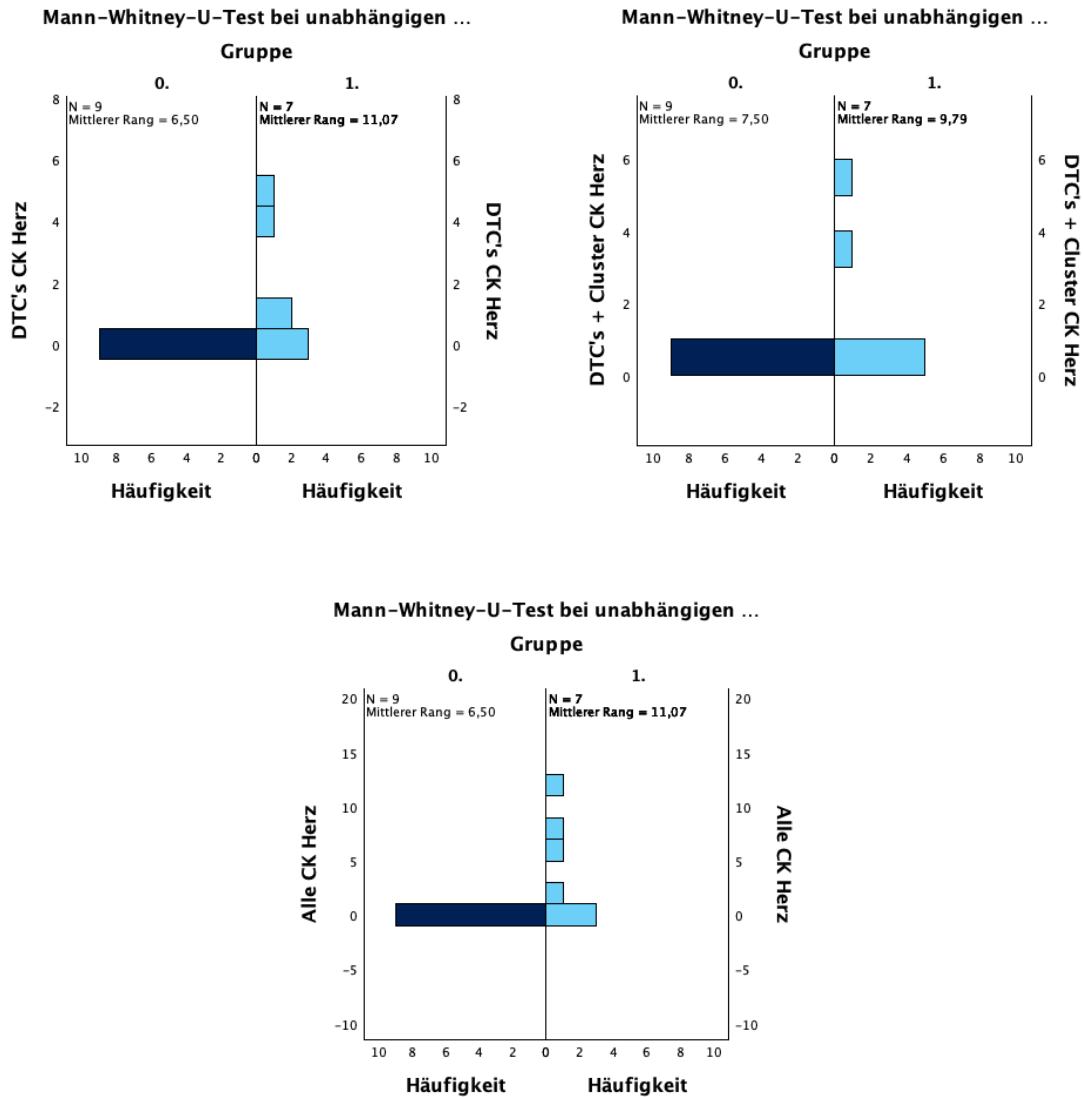


Abb. 18: Verteilung des Auftretens von Keratin-(CK)-positiven DTCs im Herzmuskel der Tumorkohorte (Gruppe 1, hellblau) und der Kontrollgruppe (Gruppe 0, dunkelblau) – Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben

Die Y-Achse zeigt die Anzahl der DTCs, die X-Achse die Häufigkeit ihres Auftretens (Anzahl der Verstorbenen). Alle DTCs: Keratin-positive Einzelzellen; DTCs + Cluster: Keratin-positive Einzelzellen + Cluster; Alle-CK: Gesamtanzahl aller Keratin-positiven Zellen. DTCs = disseminierte Tumorzellen

3.10 Korrelation zwischen der Häufigkeit des Auftretens von DTCs und dem PMI

Weiter wurde eine mögliche Korrelation zwischen der Gesamtanzahl an Keratin- bzw. EpCAM-positiven Zellen und der Länge des PMI mittel Pearson-Korrelationsanalysen untersucht. Damit sollte sichergestellt werden, dass ein verlängertes PMI die Anzahl der detektierten DTCs nicht beeinflusst.

Dabei zeigte der PMI weder eine signifikante Korrelation zum Auftreten Keratin-positiver Zellen ($N = 25$, $r = 0,040$, $p = 0,424$) noch zum Auftreten EpCAM-positiver Zellen ($N = 25$, $r = 0,121$, $p = 0,282$)

4 Diskussion

Tumorerkrankungen stellen nach wie vor eine enorme Herausforderung für moderne Gesundheitssysteme dar. In Zukunft werden Tumorerkrankungen vermutlich bei weiter steigender Lebenserwartung zur weltweit führenden Todesursache werden (Sung et al. 2021).

Das Auftreten von Rezidiven bei scheinbar geheilten Krebserkrankungen erfordert eine kritische Beurteilung der bisher eingesetzten diagnostischen und therapeutischen Verfahren. Priorität sollte hierbei die Frage haben, in welchem Ausmaß die Klinik die gesamte Bandbreite einer Tumorerkrankung abdeckt (Pluquet et al. 2019). In diesem Kontext spielen die minimal residualen Erkrankungen eine wichtige Rolle. Um zukünftig aggressive Tumoren mit schlechten Prognosen dauerhaft erfolgreich behandeln zu können, sollte die Detektion solcher Residuen fester Bestandteil der Diagnostik werden (Lin et al. 2011).

4.1 Methodisches Vorgehen

Bedeutung von Autopsien für die Erforschung minimal residualer Erkrankungen

Die Erforschung minimal residualer Erkrankungen bzw. der Dissemination von Tumorzellen ist bislang unzureichend. In diesem Forschungsfeld sind Autopsien unumgänglich. Autopsien ermöglichen Analysen an Geweben, deren Gewinnung bei lebenden Personen aufgrund der Gefahr der Verletzung lebenswichtiger Strukturen, komplexer Eingriffe und der anschließenden Wundheilung eine erhebliche Herausforderung darstellt.

Mit Hilfe von Autopsien wurde das Auftreten von Metastasen in verschiedenen Bereichen des menschlichen Körpers untersucht. Hierbei zeigte sich, dass makroskopische Metastasen im Muskel (0,03–5,6 %) selten auftreten (Magee und Rosenthal 2002, Surov et al. 2014). Laut vorhandener Case-Reports stellt vor allem der M. iliopsoas ein mögliches Reservoir für DTCs dar (Koike et al. 2005, Surov et al. 2010, Ong et al. 2019). Der M. iliopsoas setzt sich aus dem M. psoas major und dem M. iliacus zusammen. Der M. psoas major gehört zu der inneren Hüftmuskulatur und spielt eine Rolle für die Bewegung und Stabilisierung des Beckens (Andersson et al. 1995).

Studiendesign der vorliegenden Analyse

Zum Zeitpunkt der Durchführung der vorliegenden Arbeit fehlten systematische Analysen zum Vorkommen von singulären DTCs bzw. Clustern im Skelett- und Herzmuskel. Diese Dissertation vergleicht erstmals das Vorhandensein von DTCs in Form von Einzelzellen oder Clustern in verstorbenen Personen mit und ohne Tumorerkrankung über immunhistochemische Untersuchungen. Die umfassende Analyse unterschiedlicher Muskelproben und Lokalisationen der DTCs und die Verwendung unterschiedlicher Antikörper gegen epitheliale Antigene zur Detektion der Zellen bieten das Potenzial, die Ausbreitung von Tumorzellen und den Einfluss von DTCs auf die Prognose und den Krankheitsverlauf besser zu verstehen. Damit werden Ansätze für die Entwicklung neuer Therapien geschaffen.

2022 veröffentlichten Crist et al. ebenfalls eine Arbeit zur Rolle von DTCs im Skelettmuskelgewebe. In einem Mausmodell für Brustkrebs untersuchten die Autoren die Dissemination und Persistenz von DTCs mittels molekularer und immunhistochemischer Methoden. Die Analysen wurden durch die Untersuchung von Proben von zwei an einem Mammakarzinom verstorbenen Patienten ergänzt (Crist et al. 2022). In die vorliegende Arbeit wurden neben Verstorbenen mit Mammakarzinomen auch Verstorbenen mit zehn weiteren epithelialen Tumorentitäten eingeschlossen. Zudem wurde durch die Untersuchung von Geweben aus Verstorbenen ohne Erkrankung die Aussagekraft der Daten erhöht. Zusätzlich wurden in einer Probe einer Patientin mit Mammakarzinom weitere Mammakarzinom-spezifische histologische Marker (ER und GATA 3) untersucht.

Die Größe des Kollektivs liegt mit ($n = 27$) liegt im oberen Niveau relevanter postmortalen Studien. Solche Studien basieren meist auf geringeren oder ähnlichen Fallzahlen (Kim et al. 2013, Tuoheti et al. 2004, Larson et al. 1988). Es ist jedoch möglich, dass bei größeren Fallzahlen eindeutigere Ergebnisse erzielt worden wären (siehe unten). Auch sollte der Aspekt der Heterogenität des Tumorkollektivs berücksichtigt werden. Die verschiedenen Tumorentitäten und Stadien könnten sich ebenfalls auf die Detektionsraten ausgewirkt haben.

Nachweis der disseminierten Tumorzellen (DTCs)

Für die Detektion der DTCs wurden verschiedene Antikörper gegen epitheliale Antigene (Keratine, EpCAM) genutzt. Die Tumorkohorte bestand aus Verstorbenen mit epithelialen Tumoren, so dass sich mit diesen Antikörpern epitheliale DTCs im mesenchymalen Muskelgewebe nachweisen ließen.

Laut Literatur eignen sich gegen Zytokeratine gerichtete Antikörper (z. B. AE1/AE3, A45-B/B3, KL-1) zum Nachweis von DTCs epithelialen Ursprungs (Pantel und Brakenhoff 2004, Riethdorf et al. 2008), da die Zellen weiterhin diese Antigene exprimieren. Neben der Untersuchung der Proben auf Keratin-positive DTCs wurden die Proben zusätzlich auf

EpCAM-positive Zellen untersucht. In der Klinik und Forschung bietet EpCAM breitgefächerte Einsatzmöglichkeiten. EpCAM-Antikörper werden für die immunmagnetische Selektion von epithelialen CTCs aus Blut verwendet. Darüber hinaus ist EpCAM auch ein mögliches therapeutisches Ziel (Went et al. 2004, Antolovic et al. 2010). In der Literatur wird EpCAM als Marker zur Detektion von epithelialen DTCs und CTCs beschrieben (Went et al. 2005).

Bei immunhistochemischen Untersuchungen sind eine Reihe von Kriterien beim Umgang und bei der Auswahl des Materials zu beachten, um Verfälschungen der Ergebnisse zu vermeiden. Das Probenmaterial sollte möglichst rasch verwendet werden. Ein kurzes PMI verringert die Wahrscheinlichkeit einer Kontamination der Probe und einer Verschlechterung des Zustands des Gewebes. Aufgrund der umfangreichen bürokratischen Anforderungen bei der Anordnung und Durchführung einer Autopsie ist das PMI kaum beeinflussbar. Um in der vorliegenden Untersuchung eine Verfälschung der Ergebnisse durch die Länge des PMI ausschließen zu können, wurde eine Korrelationsanalyse nach Pearson durchgeführt. Hierbei konnte kein Zusammenhang zwischen der Länge des PMI und der Anzahl an positiven DTCs festgestellt werden.

Zur Sicherstellung der Aussagekraft und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wurden etablierte immunhistochemische Verfahren zur Detektion der DTCs genutzt. Zur Vermeidung von Fehlern bei der immunhistochemischen Analyse wurden die Proben im Institut für Pathologie des UKE weiterverarbeitet.

Die lichtmikroskopische Auswertung der Proben erfolgte anonymisiert. Damit sollte verhindert werden, dass der Auswerter durch die Kenntnis der Gruppenzugehörigkeit unbewusst beeinflusst wird. Systematische Fehler lassen sich bei der mikroskopischen Auszählung jedoch nicht vollständig ausschließen, auch wenn, wie im vorliegenden Fall, alle Proben vom gleichen Auswerter ausgezählt wurden.

Bei einer starken Anfärbung fiel es schwer, die Zellen einer Ebene zuzuordnen sowie zwischen Zellen im Verbund und gelösten Zellen bzw. zwischen potenziellen DTCs und Artefakten zu unterscheiden. Diese Differenzierungsschwierigkeiten können zu falsch-positiven bzw. falsch-negativen Zuordnungen geführt haben. Da davon auszugehen ist, dass solche systematischen Fehler in beiden Gruppen auftraten, hatten diese keinen Einfluss auf das Gesamtergebnis. Alle Proben wurden unter gleichen Bedingungen ausgezählt.

4.2 Nachweis von Keratin- und EpCAM-positiven DTCs im Skelettmuskel

In beiden Untersuchungsgruppen des Gesamtkollektivs mit 27 Verstorbenen waren Keratin-positive DTCs nachweisbar. Im Tumorkollektiv wiesen 87,5 % der Verstorbenen Keratin-positive Zellen auf. Auch in der Kontrollgruppe mit Verstorbenen ohne bekannte Tumorerkrankung waren Keratin-positive Zellen häufig (81,82 %). Beim Vergleich der Gesamtzahl der Keratin-positiven Zellen waren die Unterschiede zwischen der Tumorkohorte (3,9 Zellen / Patient) und der Kontrollgruppe (1,5 Zellen / Patient) deutlicher. Dennoch kamen DTCs innerhalb der Krebskohorte im Vergleich zur Kontrollgruppe laut Mann-Whitney-U-Test nicht signifikant häufiger vor ($p = 0,089$).

Für das Auftreten von Keratin-positiven Zellen im Skelettmuskel bei Verstorbenen ohne bekannte Tumorerkrankung ist folgende Erklärung denkbar. Bereits in früheren Arbeiten wurden die Zytokeratine 8 und 19 im Skelettmuskel mittels Western-Blot-Analysen nachgewiesen (O'Neill et al. 2002). Diese Zytokeratine sind in Costameren enthalten. Bei Costameren handelt es sich um gitterförmig angeordnete Einheiten in unmittelbarer Nähe der Myofibrillen. Costamere scheinen bei der seitlichen Kraftübertragung innerhalb der Fasern eine Rolle zu spielen (Hatze 2002). Keratin 19 beeinflusst zudem die Kontraktionsfähigkeit und die Morphologie des Muskels (Lovering et al. 2011). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit kam der monoklonale Antikörper AE1/AE3 zum Einsatz, der unter anderem gegen Keratin 5 und 19 gerichtet ist. Die detektierten Keratin-positiven Einzelzellen lassen sich daher vermutlich auf die Expression dieser Isoformen zurückführen.

Diese Hypothese wird zudem durch die Tatsache gestützt, dass die Anzahl an EpCAM-positiven Tumorzellen ($n = 45$) im Vergleich zu den Keratin-positiven Zellen ($n = 102$) in den Skelettmuskeln der Tumorkohorte deutlich geringer war. Im Tumorkollektiv wiesen über die Hälfte der Verstorbenen (56,25 %) EpCAM-positive DTCs auf. Beim Vergleich der Gesamtzahlen der Marker in der Tumorkohorte zeigte sich ebenfalls eine deutliche Differenz (EpCAM: 0,6 Zellen / Patient, Keratin: 3,9 Zellen / Patient). Dagegen übertraf die Anzahl der EpCAM-positiven Cluster (0,31 Cluster / Patient) die Anzahl der Keratin-positiven Cluster (0,06 Cluster / Patient). In der Kontrollgruppe konnten keine EpCAM-positiven DTCs detektiert werden.

In der Literatur wurden verschiedene Tumorentitäten (z. B. Mamma-, Bronchial-, Ösophaguskarzinom) mit einer hohen EpCAM-Expression im Primärtumor identifiziert (Went et al. 2004). In der vorliegenden Studie zeigte die Verstorbene mit Mammakarzinom (ID 16) eine höhere Anzahl an EpCAM-positiven DTCs. Auch der Patient mit einem distalen Ösophaguskarzinom (ID 13) wies mehr EpCAM-positive DTCs auf als Verstorbene mit anderen

Tumoren. Abweichend von den Literaturdaten zeigte der Verstorbene mit bekannten Bronchialkarzinomen keine EpCAM-positiven DTCs.

Für die abweichende Anzahl an mit verschiedenen Antikörpern detektierten DTCs sind verschiedene Ursachen denkbar. Die Expression von EpCAM in CTCs liegt im Vergleich zur Expression im Primärtumor und in Metastasen um einen Faktor 10 niedriger (Rao et al. 2005). Zahlreiche Studien belegen, dass während der in Kapitel 1.3.2 beschriebenen EMT die Expression von EpCAM abnimmt (Sankpal et al. 2017, Hyun et al. 2016). Dies kann dazu führen, dass CTCs beim Nachweis auf der Basis von EpCAM-Cellsearch-Systemen übersehen werden (Gorges et al. 2012). Eine verminderte Expression von EpCAM verändert die Morphologie und den Phänotyp der Zellen. Dazu zählen eine geringere Proliferation, eine erhöhte Mobilität und eine vermehrte Expression mesenchymaler Marker. Vermutlich spielt die verminderte Expression von EpCAM eine entscheidende Rolle beim dormanten und seneszenten Zustand von Tumorzellen während der Zirkulation und Invasion. Umgekehrt bietet eine erhöhte Expression von EpCAM einen Vorteil in den Phasen der Proliferation des initialen Tumors oder beim Wachstum der Metastasen (Driemel et al. 2014).

Anders als bei der Expression von Keratin unterschieden sich die Kontrollgruppe und die Tumorkohorte hinsichtlich der Expression von EpCAM im Skelettmuskel deutlich. Während bei Keratin die untersuchten Parameter keine signifikanten Unterschiede zeigten, wiesen bei den EpCAM-Analysen zwei von drei Kategorien signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen auf ($p = 0,013$). Das Fehlen EpCAM-positiver Zellen in den Proben der Kontrollgruppe weist darauf hin, dass es sich bei den angefärbten Zellen in den Proben der Tumorkohorte nicht um falsch positive Ergebnisse (Kontaminationen) handelt.

4.3 Nachweis von DTCs im Skelettmuskel mit weiteren Markern

In der vorliegenden Studie wurde das Vorkommen der DTCs im Großteil der Proben lediglich über die Expression zweier epithelialer Marker nachgewiesen. Bei jeweils einem Verstorbenen der Tumorkohorte und der Kontrollgruppe wurden die Proben mittels Feinnadelbiopsie gewonnen. In der Literatur betrug die Sensitivität für den Nachweis benignen und malignen Weichgewebstumoren in so gewonnenen Proben 90,9–99 % (Sperandeo et al. 2017).

In den mittels Feinnadelbiopsie gewonnenen Proben wurden neben Keratin und EpCAM weitere tumorspezifische Marker nachgewiesen. Da es sich bei dem Primärtumor des Verstorbenen der Tumorkohorte (ID 16) um ein Mammakarzinom handelt, wurden die Proben zusätzlich auf eine mögliche Expression von ER und GATA-3 untersucht. Im Rahmen der

histopathologischen Diagnostik von Mammakarzinomen haben sich GATA-3 als diagnostischer und ER als prognostischer Biomarker etabliert (Westhoff et al. 2023). In der vorliegenden Studie konnten sowohl im Primärtumor als auch vereinzelt im Muskelgewebe, Keratin, EpCAM-, ER- und GATA-3-positive Zellen nachgewiesen werden. In der Probe der Kontrollgruppe (ID 23) wurden mit den vier Antikörpern keine positiven Zellen nachgewiesen. Die vorliegenden Befunde deuten an, dass es möglich ist, über den immunhistochemischen Nachweis spezifischer Marker DTCs im Skelettmuskel zu detektieren.

4.4 Nachweis von Keratin- und EpCAM-positiven DTCs im Herzmuskel

In der vorliegenden Studie wurde zusätzlich das Vorkommen von DTCs in Herzmuskelgewebe (*M. papillaris*) untersucht. Von acht der 16 Verstorbenen der Tumorkohorte und von neun der elf Verstorbenen der Kontrollkohorte wurden dazu Proben entnommen. In vier der acht Proben der Tumorkohorte waren Keratin-positive Zellen nachweisbar. In der Kontrollgruppe konnten dagegen keine Keratin-positiven DTCs detektiert werden. Der Unterschied bezüglich der Häufigkeit Keratin-positiver Zellen zwischen den beiden Gruppen verfehlte jedoch – vermutlich aufgrund der geringen Probenanzahl – knapp die Signifikanz ($p = 0,093$). In keine der Proben der Kontrollgruppe oder Tumorkohorte waren EpCAM-positive Zellen nachweisbar. Dieses für die Kontrollgruppe erwartete Ergebnis war für die Tumorkohorte überraschend.

Wie beschrieben, kommen Costamere physiologisch im Skelettmuskel vor; im Herzmuskel sind sie ebenfalls vorhanden. Bisher fehlen jedoch Studien, in denen Keratin-positive Zellen im Herzmuskel nachgewiesen wurden. Der komplexe Aufbau der Costamere unterscheidet sich auch innerhalb des Herzmuskels in Abhängigkeit davon, ob es sich um ventrikuläre oder atriale Myozyten handelt (Di Mauro et al. 2009). Zusätzlich existieren strukturelle Unterschiede zwischen Costameren des Herz- und Skelettmuskels (Anastasi et al. 2009). Diese Heterogenität der Costamere erklärt somit möglicherweise den fehlenden Nachweis von Keratin-positiven Zellen im Herzmuskel.

In der Literatur ist das Herz als mögliche Lokalisation für Metastasen bisher nur unzureichend erforscht und stellt Onkologen vor außerordentliche Herausforderungen. In Autopsieberichten finden sich Detektionsraten von 2,3–18,3 % (Bussani et al. 2007). Anders als in der vorliegenden Arbeit wurde in dieser Vergleichsstudie aber nicht nur Herzmuskelgewebe betrachtet, sondern alle Gewebeschichten des Herzens und zusätzlich Invasionen in die Herzkavität. Primäre Tumoren des Mediastinums zeigen einer deutlich höheren Affinität zur Streuung in Herzgewebe als andere Tumorarten (Butany et al. 2005, Goldberg et al.

2013). Diese Tumoren wurden jedoch in der vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt. Somit könnten die Beschränkung auf die Analyse von Herzmuskelgewebe und die untersuchten Tumorentitäten die niedrigen Detektionsraten für Keratin-positive Zellen und das Fehlen EpCAM-positiver Zellen erklären. Theoretisch kann jedoch jeder Tumor über lymphatische, hämatogene oder über die direkte transvenöse Ausbreitung ins Herz metastasieren (Reynen et al. 2004).

4.5 Vergleich der Befunde im Skelett- und Herzmuskel

Die Skelettmuskulatur, die aus ca. 400 Muskeln besteht, macht beim Menschen etwa 40 % der Körpermasse aus (Poortmans et al. 2005). Die Herzmuskulatur und die glatte Muskulatur haben einen deutlich geringen Anteil. In der vorliegenden Arbeit zeigten sich bei der Analyse der Skelett- (M. psoas) und Herzmuskulatur (M. papillaris) deutliche Unterschiede hinsichtlich der Anzahl der vorkommenden DTCs in Abhängigkeit von der Untersuchungsgruppe und des für die Detektion verwendeten Antikörpers.

Bei nahezu jedem Verstorbenen der Tumorkohorte waren Keratin-positive DTCs im skelettalen Muskel nachweisbar; im Herzmuskel war dies nur bei ca. der Hälfte der Verstorbenen der Fall. Die Gesamtzahl der Keratin-positiven DTCs betrug im Skelettmuskel 102 und im Herzmuskel 25. In der Kontrollgruppe war dieser Unterschied noch deutlicher; im Herzmuskel waren keine Keratin-positiven DTCs nachweisbar im Skelettmuskel hingegen 27.

EpCAM-positive Zellen kamen in der Tumorkohorte lediglich im Skelettmuskel und nicht im Herzmuskel vor. In der Kontrollgruppe waren EpCAM-positive Zellen weder im Skelett- noch im Herzmuskel detektierbar.

Der geringere Ansiedlungswahrscheinlichkeit von DTCs im Herzmuskel im Vergleich zum Skelettmuskel hat vermutlich verschiedene Ursachen. In der Literatur werden unterschiedliche Gründe für die Ineffizienz der Metastasierung im Herzen postuliert. Prichard beschrieb bereits 1951, dass die Aktivität, die Stoffwechselprodukte sowie der Blut- und Lymphfluss DTCs negativ beeinflussen (Prichard 1951). Das menschliche Herz schlägt im Schnitt 80 mal pro Minute (Jubadi und Sahak 2009). Diese kontinuierliche Aktivität des Herzmuskels ist ein Störfaktor für potenziell disseminierende Krebszellen. Metastasen im Endokardium treten häufiger im rechten Vorhof auf. Der rechte Vorhof des Herzens weist einen geringeren Druck, einen langsameren Blutfluss und eine geringe Kontraktionskraft auf (Bussani et al. 2007). Diese Beobachtungen stützen, die von Prichard postulierten hemmenden Effekte. Metastasen im Herzen zeigen sich häufig erst bei fortgeschrittenen Tumorerkrankungen (Hudzik et al. 2015).

Laut Autopsieberichten treten Metastasen vor allem epikardial auf, während tief infiltrierende und endokardiale Manifestationen äußerst selten sind (Goldberg et al. 2013). Aufgrund der anatomischen Lokalisation des M. papillaris sind daher Infiltrationen mit einer äußerst geringen Wahrscheinlichkeit zu erwarten.

4.6 Lokalisation der DTCs im Skelettmuskel

Der Skelettmuskel ist ein hochkomplexes System mit unterschiedlichen anatomischen Schichten. Daher wurde in der vorliegenden Studie auch die Lokalisation der DTCs innerhalb des M. psoas untersucht. Bei der Interpretation der Befunde ist jedoch zu berücksichtigen, dass nicht alle detektierten DTCs einer Lokalisation zugeordnet werden konnten. Zu den Ursachen zählte die Schnittrichtung der Präparate (Längsschnitt) und die Lage der DTCs im Grenzbereich zwischen zwei Schichten.

Die meisten Keratin-positiven DTCs waren in der Tumorkohorte im mittleren Teil des Muskels, dem Perimysium, nachweisbar. In dieser Schicht lagen auch die meisten EpCAM-positiven DTCs. Im Epimysium waren mit dem EpCAM-Antikörper keine DTCs nachweisbar.

Die präferentielle Ansiedlung von DTCs im Perimysium lässt sich anhand der förderlichen Mikroumgebung erklären. Das Perimysium ist durchzogen von kleineren Arterien, Arteriolen und Venen, was sich positiv auf die Versorgung der DTCs auswirkt. Im Bereich des Epimysiums dominiert dagegen Fettgewebe (Steiner et al. 1946). Die Präferenz der DTCs für das Perimysium deutet auf einen Überlebensvorteil hin.

Zusätzlich weist das Perimysium neben Kollagen I und III, die auch im Epi- und Endomysium vorkommen, zusätzlich Kollagen V auf (Light und Champion 1984). Kollagen I, III und V dienen als Liganden für auf Tumorzellen häufig exprimierte Adhäsionsrezeptoren (Beunk et al. 2019). Das zusätzlich vorkommende Kollagen V könnte die Migration der DTCs in das Perimysium verstärken.

Zudem besitzt das Epimysium im Vergleich zum Endo- oder Perimysium aufgrund unterschiedlicher Kollagen-Fasergerüste eine höhere Steifigkeit (Beunk et al. 2019). Diese Barriere verringert die Zellinvasion (Pathak und Kumar 2012).

In der Kontrollgruppe zeigten die DTCs hinsichtlich der Verteilung in den anatomischen Bereichen der Skelettmuskulatur keine Präferenz. Die detektierten Keratin-positiven Zellen lagen zu je einem Drittel im Epi-, Peri und Endomysium gleichmäßig verteilt. Dieser Befund lässt sich mit hoher Wahrscheinlichkeit auf das bereits oben beschriebene Vorhandensein von Zytokeratin 5 und 19 im Skelettmuskel erklären.

4.7 Schlussfolgerungen und Ausblick

Die Identifizierung und Charakterisierung von DTCs im Muskelgewebe stellt einen großen Fortschritt für die Erforschung der minimalen Resterkrankungen dar. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit belegen, dass DTCs epithelialen Ursprungs mittels Keratin- und EpCAM-Antikörper im Skelettmuskel von Personen mit einem bekanntem Tumorleiden, nachweisbar sind. Sowohl Keratin- als auch EpCAM-positive DTCs traten im mittleren Kompartiment (Perimysium) des Skelettmuskels am häufigsten auf.

Die geringe Anzahl an Keratin-positiven Zellen bzw. das Nicht-Vorhandensein von EpCAM-positiven Zellen im Herzmuskel der Tumorkohorte und das Fehlen von positiven Zellen im Herzmuskel der Kontrollgruppe spricht für die bereits in der Literatur beschriebene ungünstige Mikroumgebung für DTCs.

Für die Anwendung im klinischen Alltag ist die in der vorliegenden Arbeit gewählte Methodik der Detektion von DTCs allein schon aufgrund der Invasivität der Probengewinnung ungeeignet. Allerdings erweitern die gewonnenen Ergebnisse das grundlegende Verständnis zu möglichen Tumorzell-Reservoirs im Körper.

Eine zentrale Herausforderung zukünftiger Analysen wird sein, die spezifischen Faktoren zu identifizieren, die die Dissemination einzelner Tumorzellen in das Muskelgewebe begünstigen. Hierzu sollte in weiteren Studien eine molekulare Analyse der DTCs erfolgen. In der vorliegenden Untersuchung wurde die Existenz von EpCAM-positiven DTCs im Skelettmuskel nachgewiesen. Solche EpCAM-positiven DTCs könnten in Folgeanalysen zunächst mittels eines Cell-Search-Systems (z. B. DEPArray) isoliert, im Anschluss amplifiziert und schließlich molekular analysiert werden. Eine solche Analyse würde maßgeblich dazu beitragen die Anpassungen zu verstehen, die eine Zelle durchlaufen muss, um unter nicht idealen Bedingungen überleben zu können. Auf der Basis dieses Verständnisses könnten neue zielgerichtete Therapiestrategien gegen mögliche Rezidive entwickelt werden.

5 Zusammenfassung / Summary

Die Diagnostik und Therapie von Tumorerkrankungen sind auch für die moderne Medizin herausfordernd. Aufgrund der steigenden Lebenserwartung nimmt weltweit die Bedeutung von Tumorerkrankungen zu. Das Vorkommen disseminierter Tumorzellen (DTCs) im Knochenmark wurden mit einem schlechteren Krankheitsverlauf bei epithelialen Tumoren (z. B. Mammakarzinom) in Verbindung gebracht. Diese DTCs korrelieren mit einem höheren Tumorstadium, einer schlechteren Differenzierung, Lymphknotenmetastasen und einer fehlenden Hormonrezeptor-Expression. Ziel der vorliegenden Dissertation war die Analyse der potenziellen Rolle von Muskeln als Reservoir für DTCs.

Hierfür wurden Autopsieproben aus Skelett- (Musculus psoas) und Herzmuskel (Musculus papillaris) von verstorbenen Personen mit ($n = 16$) und ohne ($n = 11$) epitheliale Tumorerkrankungen hinsichtlich des Vorhandenseins von DTCs verglichen. Der Nachweis der DTCs erfolgte über eine immunhistochemische Anfärbung von Keratin und dem *Epithelial Cell Adhesion Molecule* (EpCAM). Bei jeweils einer Probe wurden weitere tumorspezifische Marker (Östrogen-Rezeptor (ER), Transkriptionsfaktor GATA-3) analysiert. Darüber hinaus wurde die Lage der DTCs im Skelettmuskel (Endo-, Peri-, Epimysium) bestimmt.

In der Tumorkohorte wiesen nahezu alle Skelettmuskel-Proben Keratin-positive DTCs auf. Auch in der Kontrollgruppe waren Keratin-positive Zellen nachweisbar. Ihre Anzahl war im Vergleich zur Tumorkohorte zwar deutlich, aber nicht signifikant reduziert ($p = 0,089$). Dies könnte durch das physiologische Vorkommen von Costameren erklärt werden, welche Keratine enthalten. Dagegen wiesen die Skelettmuskel-Proben der Kontrollgruppe im Vergleich zu den Proben der Tumorkohorte eine signifikant geringere Anzahl EpCAM-positiver DTCs auf ($p = 0,013$). In der Tumorkohorte war die Mehrzahl der Keratin- und EpCAM-positiven DTCs im mittleren Kompartiment des Skelettmuskels (Perimysium) lokalisiert. Im Gegensatz hierzu verteilten sich die positiven Zellen der Kontrollgruppe gleichmäßig über die drei anatomischen Kompartimente. Im Skelettmuskel der Tumorkohorte, nicht aber in der Kontrollgruppe waren auch ER- und GATA-3- positive Zellen nachweisbar, was die These des Vorkommens von DTCs im Skelettmuskel unterstützt. In den Herzmuskel-Proben beider Gruppen wurden keine EpCAM-positiven DTCs detektiert, Keratin-positive DTCs traten nur in den Proben der Tumorkohorte auf.

Die vorliegenden Befunde belegen die Existenz epithelialer DTCs im Skelettmuskel. Eine molekulare Charakterisierung dieser DTC-Populationen in zukünftigen Studien könnte helfen, zielgerichtete Therapiestrategien gegen von diesen Zellen ausgehende Rezidive zu entwickeln.

The diagnosis and treatment of tumor diseases are still challenging for modern medicine. Due to increasing life expectancy, the importance of tumor diseases is increasing worldwide. The presence of disseminated tumor cells (DTCs) in the bone marrow has been associated with a worse disease course in epithelial tumors (e.g. mamma carcinoma). These DTCs correlate with higher tumor stage, poorer differentiation, lymph node metastases and a lack of hormone receptor expression. The aim of this dissertation was to analyze the potential role of muscles as a reservoir for DTCs.

For this purpose, autopsy samples from skeletal- (psoas muscle) and cardiac- (papillaris muscle) muscle of deceased individuals with (n=16) and without (n=11) epithelial tumors were compared for the presence of DTCs. DTCs were detected using immunohistochemical staining for keratin and the cell adhesion molecule (EpCAM). Additional tumor-specific markers (estrogen receptor, GATA-3) were analyzed in one sample each. Furthermore, the location of the DTCs in the skeletal muscle (endo-,peri-,epimysium) was determined.

In the tumor cohort almost all samples contained keratin-positive DTCs. Keratin-positive cells were also detectable within the control group; however, their number was clearly but not significantly lower compared to the tumor cohort ($p = 0,089$). This could be explained by the physiological presence of costameres, which contain keratins. In contrast, the control group samples compared to the tumor cohort samples showed a significantly lower number of EpCAM-positive cells ($p=0,013$). In the tumor cohort most keratin- and EpCAM-positive DTCs were located in the middle compartment of the skeletal muscle (perimysium), whereas the positive cells detected in the control group showed an even distribution across the three anatomical compartments. The detection of ER- and GATA-3-positive cells exclusively in the tumor cohort supports the thesis of the existence of DTCs in the skeletal muscle. For the heart muscle no EpCAM-positive cells could be detected in both groups, keratin-positive DTCs were found only in the tumor cohort.

The present findings demonstrate the existence of epithelial DTCs in skeletal muscle. Molecular characterization of these DTC populations in future studies could help to develop targeted therapeutic strategies against recurrences originating from these cells.

6 Literaturverzeichnis

- ACETO, N., BARDIA, A., MIYAMOTO, D. T., DONALDSON, M. C., WITTNER, B. S., SPENCER, J. A., YU, M., PELY, A., ENGSTROM, A. & ZHU, H. 2014. Circulating tumor cell clusters are oligoclonal precursors of breast cancer metastasis. *Cell*, 158, 1110-1122.
- AGAMANOLIS, D. P., DASU, S. & KRILL JR, C. E. 1986. Tumors of skeletal muscle. *Jornal Human Pathology*, 17, 778-795.
- AGUIRRE-GHISO, J. A. 2007. Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy. *Nature Reviews Cancer*, 7, 834-846.
- AGUIRRE-GHISO, J. A. 2018. How dormant cancer persists and reawakens. *Science*, 361, 1314-1315.
- AGUIRRE-GHISO, J. A., BRAGADO, P. & SOSA, M. S. 2013. Metastasis awakening: targeting dormant cancer. *Nature medicine*, 19, 276-277.
- ALTERSBERGER, I. & GEISLER, F. 2022. *Muskulatur - Aufbau der Skelettmuskulatur* [Online]. Available: <https://bioaktive-kollagenpeptide.de/wirkungen-muskulatur/> [Accessed 28.02 2023].
- ALTORKI, N. K., MARKOWITZ, G. J., GAO, D., PORT, J. L., SAXENA, A., STILES, B., MCGRAW, T. & MITTAL, V. 2019. The lung microenvironment: an important regulator of tumour growth and metastasis. *Nature Reviews Cancer*, 19, 9-31.
- ANASTASI, G., CUTRONEO, G., GAETA, R., DI MAURO, D., ARCO, A., CONSOLO, A., SANTORO, G., TRIMARCHI, F. & FAVALORO, A. 2009. Dystrophin-glycoprotein complex and vinculin-talin-integrin system in human adult cardiac muscle. *International journal of molecular medicine*, 23, 149-159.
- ANDERSON, C. N. 2016. Iliopsoas: pathology, diagnosis, and treatment. *Clinics in sports medicine*, 35, 419-433.
- ANDERSSON, E., ODDSSON, L., GRUNDSTRÖM, H. & THORSTENSSON, A. 1995. The role of the psoas and iliacus muscles for stability and movement of the lumbar spine, pelvis and hip. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 5, 10-16.
- ANG, H. L., MOHAN, C. D., SHANMUGAM, M. K., LEONG, H. C., MAKVANDI, P., RANGAPPA, K. S., BISHAYEE, A., KUMAR, A. P. & SETHI, G. 2023. Mechanism of epithelial-mesenchymal transition in cancer and its regulation by natural compounds. *Medicinal research reviews*, 43, 1141-1200.
- ANTOLOVIC, D., GALINDO, L., CARSTENS, A., RAHBARI, N., BÜCHLER, M. W., WEITZ, J. & KOCH, M. 2010. Heterogeneous detection of circulating tumor cells in patients with colorectal cancer by immunomagnetic enrichment using different EpCAM-specific antibodies. *BMC biotechnology*, 10, 1-8.
- ARACKAL, A., & ALSAYOURI, K. (2023). Histology, Heart. [Online] *In StatPearls*. StatPearls Publishing. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545143/> [Accessed 27.07 2024].
- ART, S. M. 2024. *Microscope* [Online]. Servier Medical Art Available: https://smart.servier.com/smart_image/microscope/ [Accessed 13.04 2024].
- BALIC, M., LIN, H., YOUNG, L., HAWES, D., GIULIANO, A., MCNAMARA, G., DATAR, R. H. & COTE, R. J. 2006. Most early disseminated cancer cells detected in bone marrow of breast cancer patients have a putative breast cancer stem cell phenotype. *Clinical cancer research*, 12, 5615-5621.
- BANYARD, J. & BIELENBERG, D. R. 2015. The role of EMT and MET in cancer dissemination. *Connective tissue research*, 56, 403-413.
- BEUNK, L., BROWN, K., NAGTEGAAL, I., FRIEDL, P. & WOLF, K. 2019. Cancer invasion into musculature: Mechanics, molecules and implications. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 93, 36-45.
- BIDARD, F.-C., VINCENT-SALOMON, A., GOMME, S., NOS, C., DE RYCKE, Y., THIERY, J. P., SIGAL-ZAFRANI, B., MIGNOT, L., SASTRE-GARAU, X. &

- PIERGA, J.-Y. 2008. Disseminated tumor cells of breast cancer patients: a strong prognostic factor for distant and local relapse. *Clinical Cancer Research*, 14, 3306-3311.
- BOCKHORN, M., JAIN, R. K. & MUNN, L. L. 2007. Active versus passive mechanisms in metastasis: do cancer cells crawl into vessels, or are they pushed? *The lancet oncology*, 8, 444-448.
- BÖRNER, F. U., SCHÜTZ, H. & WIEDEMANN, P. 2009. A population-based survey on tanning bed use in Germany. *BMC dermatology*, 9, 1-8.
- BRAUN, S., VOGL, F. D., NAUME, B., JANNI, W., OSBORNE, M. P., COOMBES, R. C., SCHLIMOK, G., DIEL, I. J., GERBER, B. & GEBAUER, G. 2005. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer. *New England journal of medicine*, 353, 793-802.
- BRODT, P. 2016. Role of the microenvironment in liver metastasis: from pre-to prometastatic niches. *Clinical Cancer Research*, 22, 5971-5982.
- BUSSANI, R., DE-GIORGIO, F., ABBATE, A. & SILVESTRI, F. 2007. Cardiac metastases. *Journal of clinical pathology*, 60, 27-34.
- BUTANY, J., NAIR, V., NASEEMUDDIN, A., NAIR, G. M., CATTON, C. & YAU, T. 2005. Cardiac tumours: diagnosis and management. *The lancet oncology*, 6, 219-228.
- CAMPISI, J. 2013. Aging, cellular senescence, and cancer. *Annual review of physiology*, 75, 685-705.
- CHANDRA, R., KARALIS, J. D., LIU, C., MURIMWA, G. Z., VOTH PARK, J., HEID, C. A., REZNIK, S. I., HUANG, E., MINNA, J. D. & BREKKEN, R. A. 2021. The colorectal cancer tumor microenvironment and its impact on liver and lung metastasis. *Cancers*, 13, 6206.
- CLEARLIGHT BIOTECHNOLOGIES, I. 2024. *Compare FFPE to CLARITY + Tru3D* [Online]. ClearLight Biotechnologies, Inc. Available: <https://clearlightbiotechnologies.com/technology/2d-ffpe-ihc-imaging-vs-tru3d-and-clarity-with-field-of-view/> [Accessed 13.04.2024].
- CORMIER, J. N. & POLLOCK, R. E. 2004. Soft tissue sarcomas. *CA: a cancer journal for clinicians*, 54, 94-109.
- CRIST, S. B., NEMKOV, T., DUMPIT, R. F., DAI, J., TAPSCOTT, S. J., TRUE, L. D., SWARBRICK, A., SULLIVAN, L. B., NELSON, P. S. & HANSEN, K. C. 2022. Unchecked oxidative stress in skeletal muscle prevents outgrowth of disseminated tumour cells. *Nature Cell Biology*, 24, 538-553.
- CROSBIE, E. J., EINSTEIN, M. H., FRANCESCHI, S. & KITCHENER, H. C. 2013. Human papillomavirus and cervical cancer. *The Lancet*, 382, 889-899.
- CSAPO, R., GUMPENBERGER, M. & WESSNER, B. 2020. Skeletal muscle extracellular matrix—what do we know about its composition, regulation, and physiological roles? A narrative review. *Frontiers in physiology*, 11, 517800.
- DAGHER, R. & HELMAN, L. 1999. Rhabdomyosarcoma: an overview. *The oncologist*, 4, 34-44.
- DASGUPTA, R., FUCHS, J. & RODEBERG, D. 2016. Rhabdomyosarcoma. *Seminars in pediatric surgery*, 25(5), 276-283.
- DESTATIS, S. B. 2022. *Europa Mehr als die Hälfte der Erwachsenen hat Übergewicht* [Online]. Available: <https://www.destatis.de/Europa/DE/Thema/Bevoelkerung-Arbeit-Soziales/Gesundheit/Uebergewicht.html> [Accessed 27.02.2022].
- DI MAURO, D., GAETA, R., ARCO, A., MILARDI, D., LENTINI, S., RUNCI, M., RIZZO, G. & MAGAUDDA, L. 2009. Distribution of costameric proteins in normal human ventricular and atrial cardiac muscle. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 47, 605-608.
- DRIEMEL, C., KREMLING, H., SCHUMACHER, S., WILL, D., WOLTERS, J., LINDENLAUF, N., MACK, B., BALDUS, S., HOYA, V. & PIETSCH, J. 2014. Context-dependent adaption of EpCAM expression in early systemic esophageal cancer. *Oncogene*, 33, 4904-4915.

- DUJON, A. M., CAPP, J.-P., BROWN, J. S., PUJOL, P., GATENBY, R. A., UJVARI, B., ALIX-PANABIÈRES, C. & THOMAS, F. 2021. Is there one key step in the metastatic cascade? *Cancers*, 13, 3693.
- ENDO, H. & INOUE, M. 2019. Dormancy in cancer. *Cancer science*, 110, 474-480.
- ENEROTH, C.-M. 1965. Zur Frage der Semimalignität bei Mischtumoren der großen Speicheldrüsen. *Archiv für Ohren-, Nasen-und Kehlkopfheilkunde*, 184, 430-442.
- FARES, J., FARES, M. Y., KHACHFE, H. H., SALHAB, H. A. & FARES, Y. 2020. Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. *Signal transduction and targeted therapy*, 5, 1-17.
- FEHM, T., BRAUN, S., MULLER, V., JANNI, W., GEBAUER, G., MARTH, C., SCHINDLBECK, C., WALLWIENER, D., BORGEN, E. & NAUME, B. 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(5), 885-892.
- FIDLER, I. J. 2003. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nature reviews cancer*, 3, 453-458.
- FÜRST, D. O. & SCHRÖDER, R. 2014. Quergestreifte Muskulatur. In: *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie*. HEINRICH, P., MÜLLER, M., GRAEVE, L. (Hrg.), 787-804.
- GAO, Y., KOSTROMINOVA, T. Y., FAULKNER, J. A. & WINEMAN, A. S. 2008. Age-related changes in the mechanical properties of the epimysium in skeletal muscles of rats. *Journal of biomechanics*, 41, 465-469.
- GENADRY, K. C., PIETROBONO, S., ROTA, R. & LINARDIC, C. M. 2018. Soft tissue sarcoma cancer stem cells: an overview. *Frontiers in oncology*, 8, 374818.
- GIANCOTTI, F. G. 2013. Mechanisms governing metastatic dormancy and reactivation. *Cell*, 155, 750-764.
- GOLDBERG, A. D., BLANKSTEIN, R. & PADERA, R. F. 2013. Tumors metastatic to the heart. *Circulation*, 128, 1790-1794.
- GORGES, T. M., TINHOFFER, I., DROSCH, M., RÖSE, L., ZOLLNER, T. M., KRAHN, T. & VON AHSEN, O. 2012. Circulating tumour cells escape from EpCAM-based detection due to epithelial-to-mesenchymal transition. *BMC cancer*, 12, 1-13.
- GREDNER, T., BEHRENS, G., STOCK, C., BRENNER, H. & MONS, U. 2018. Cancers Due to Infection and Selected Environmental Factors: Estimation of the Attributable Cancer Burden in Germany. *Deutsches Ärzteblatt International*, 115, 586.
- GUPTA, G. P. & MASSAGUÉ, J. 2006. Cancer metastasis: building a framework. *Cell*, 127, 679-695.
- HADFIELD, G. 1954. The dormant cancer cell. *British medical journal*, 2, 607.
- HANAHAN, D. 2022. Hallmarks of cancer: new dimensions. *Cancer discovery*, 12, 31-46.
- HANAHAN, D. & WEINBERG, R. A. 2000. The hallmarks of cancer. *cell*, 100, 57-70.
- HANAHAN, D. & WEINBERG, R. A. 2011. Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*, 144, 646-674.
- HARRYMAN, W. L., MARR, K. D., HERNANDEZ-CORTES, D., NAGLE, R. B., GARCIA, J. G. & CRESS, A. E. 2021. Cohesive cancer invasion of the biophysical barrier of smooth muscle. *Cancer and Metastasis Reviews*, 40, 205-219.
- HATZE, H. 2002. Fundamental issues, recent advances, and future directions in myodynamics. *Journal of Electromyography and Kinesiology*, 12, 447-454.
- HAY, E. D. 1995. An overview of epithelio-mesenchymal transformation. *Cells Tissues Organs*, 154, 8-20.
- HE, Z., CHEN, Z., TAN, M., ELINGARAMI, S., LIU, Y., LI, T., DENG, Y., HE, N., LI, S. & FU, J. 2020. A review on methods for diagnosis of breast cancer cells and tissues. *Cell proliferation*, 53, e12822.
- HEEKE, S., MOGRABI, B., ALIX-PANABIÈRES, C. & HOFMAN, P. 2019. Never travel alone: the crosstalk of circulating tumor cells and the blood microenvironment. *Cells*, 8, 714.

- HOSSEINI, H., OBRADOVIĆ, M., HOFFMANN, M., HARPER, K. L., SOSA, M. S., WERNER-KLEIN, M., NANDURI, L. K., WERNO, C., EHRL, C. & MANECK, M. 2016. Early dissemination seeds metastasis in breast cancer. *Nature*, 540, 552-558.
- HUANG, Y., HONG, W. & WEI, X. 2022. The molecular mechanisms and therapeutic strategies of EMT in tumor progression and metastasis. *Journal of hematology & oncology*, 15, 129.
- HUDZIK, B., MISZALSKI-JAMKA, K., GLOWACKI, J., LEKSTON, A., GIERLOTKA, M., ZEMBALA, M., POLONSKI, L. & GASIOR, M. 2015. Malignant tumors of the heart. *Cancer epidemiology*, 39, 665-672.
- HUMPHREY, P. A. 2017. Histopathology of prostate cancer. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 7, a030411.
- HYUN, K.-A., KOO, G.-B., HAN, H., SOHN, J., CHOI, W., KIM, S.-I., JUNG, H.-I. & KIM, Y.-S. 2016. Epithelial-to-mesenchymal transition leads to loss of EpCAM and different physical properties in circulating tumor cells from metastatic breast cancer. *Oncotarget*, 7, 24677.
- INDIANA UNIVERSITY. 2016. *The Heart* [Online]. Available: https://vmicro.iusm.iu.edu/hs_vm/docs/lab9_2.htm [Accessed 27.07 2024].
- JONES, P. A. & BAYLIN, S. B. 2007. The epigenomics of cancer. *Cell*, 128, 683-692.
- JUBADI, W. M. & SAHAK, S. F. A. M. Heartbeat monitoring alert via SMS. In 2009 IEEE Symposium on Industrial Electronics & Applications, 2009. 1, 1-5.
- KALLURI, R. & WEINBERG, R. A. 2009. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *The Journal of clinical investigation*, 119, 1420-1428.
- KARAMAN, S. & DETMAR, M. 2014. Mechanisms of lymphatic metastasis. *The Journal of clinical investigation*, 124, 922-928.
- KIM, Y. W., SEO, K. J., LEE, S. L., KWON, K. W., HUR, J., AN, H. J., KO, Y. H., KIM, J. S. & WON, H. S. 2013. Skeletal muscle metastases from breast cancer: two case reports. *Journal of breast cancer*, 16, 117-121.
- KLEIN, C. A. 2009. Parallel progression of primary tumours and metastases. *Nature Reviews Cancer*, 9, 302-312.
- KLEIN, C. A., BLANKENSTEIN, T. J., SCHMIDT-KITTLER, O., PETRONIO, M., POLZER, B., STOECKLEIN, N. H. & RIETHMÜLLER, G. 2002. Genetic heterogeneity of single disseminated tumour cells in minimal residual cancer. *The Lancet*, 360, 683-689.
- KOIKE, Y., HATORI, M. & KOKUBRUN, S. 2005. Skeletal muscle metastasis secondary to cancer—a report of seven cases. *Upsala journal of medical sciences*, 110, 75-83.
- KOTZ, D., BÖCKMANN, M. & KASTAUN, S. 2018. The use of tobacco, e-cigarettes, and methods to quit smoking in Germany: A representative study using 6 waves of data over 12 months (the DEBRA study). *Deutsches Ärzteblatt International*, 115, 235.
- LADICH, E. & VIRMANI, R. 2016. Tumors of the cardiovascular system: heart and blood vessels. In: *Cardiovascular Pathology*. BUJA, L., BUTANY, J. (Hrg.), 735-772.
- LAMBERT, A. W., PATTABIRAMAN, D. R. & WEINBERG, R. A. 2017. Emerging biological principles of metastasis. *Cell*, 168, 670-691.
- LARSON, D., BOTTLES, K., FEDERLE, M., FIPPIN, L. & LUCE, J. 1988. Skeletal muscle metastases from pancreatic cancer. *Oncology Research and Treatment*, 11, 282-285.
- LI, Q., WANG, L., PAN, S., SHU, H., MA, Y., LU, Z., FU, X., JIANG, B. & GUO, Q. 2016. Skeletal muscle metastases on magnetic resonance imaging: analysis of 31 cases. *Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia*, 20, 242-250.
- LIANIDOU, E. & PANTEL, K. 2019. Liquid biopsies. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 58, 219-232.
- LIGHT, N. & CHAMPION, A. E. 1984. Characterization of muscle epimysium, perimysium and endomysium collagens. *Biochemical Journal*, 219, 1017-1026.

- LIN, H., BALIC, M., ZHENG, S., DATAR, R. & COTE, R. J. 2011. Disseminated and circulating tumor cells: Role in effective cancer management. *Critical reviews in oncology/hematology*, 77, 1-11.
- LIU, D. & HORNSBY, P. J. 2007. Senescent human fibroblasts increase the early growth of xenograft tumors via matrix metalloproteinase secretion. *Cancer research*, 67, 3117-3126.
- LOVERING, R. M., O'NEILL, A., MURIEL, J. M., PROSSER, B. L., STRONG, J. & BLOCH, R. J. 2011. Physiology, structure, and susceptibility to injury of skeletal muscle in mice lacking keratin 19-based and desmin-based intermediate filaments. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 300, C803-C813.
- MAGBANUA, M. J. M., YAU, C., WOLF, D. M., LEE, J. S., CHATTOPADHYAY, A., SCOTT, J. H., BOWLBY-YODER, E., HWANG, E. S., ALVARADO, M. & EWING, C. A. 2019. Synchronous Detection of Circulating Tumor Cells in Blood and Disseminated Tumor Cells in Bone Marrow Predicts Adverse Outcome in Early Breast Cancer Synchronous Detection of CTCs and DTCs Predicts Poor Outcome. *Clinical Cancer Research*, 25, 5388-5397.
- MAGEE, T. & ROSENTHAL, H. 2002. Skeletal muscle metastases at sites of documented trauma. *American Journal of Roentgenology*, 178, 985-988.
- MITRA, A., MISHRA, L. & LI, S. 2015. EMT, CTCs and CSCs in tumor relapse and drug-resistance. *Oncotarget*, 6, 10697-10711.
- MONS, U., GREDNER, T., BEHRENS, G., STOCK, C. & BRENNER, H. 2018. Cancers due to smoking and high alcohol consumption: estimation of the attributable cancer burden in Germany. *Deutsches Ärzteblatt International*, 115, 571.
- MORGAN-PARKES, J. H. 1995. Metastases: mechanisms, pathways, and cascades. *AJR. American journal of roentgenology*, 164, 1075-1082.
- NISHIDA, N., YANO, H., NISHIDA, T., KAMURA, T. & KOJIRO, M. 2006. Angiogenesis in cancer. *Vascular health and risk management*, 2, 213-219.
- O'NEILL, A., WILLIAMS, M. W., RESNECK, W. G., MILNER, D. J., CAPETANAKI, Y. & BLOCH, R. J. 2002. Sarcolemmal organization in skeletal muscle lacking desmin: evidence for cytokeratins associated with the membrane skeleton at costameres. *Molecular biology of the cell*, 13, 2347-2359.
- ONG, N., GEORGE, M., DUTTA, R. & NG, C. 2019. CT imaging features of skeletal muscle metastasis. *Clinical Radiology*, 74, 374-377.
- PANTEL, K. & ALIX-PANABIÈRES, C. 2019. Liquid biopsy and minimal residual disease—latest advances and implications for cure. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 16, 409-424.
- PANTEL, K. & BRAKENHOFF, R. H. 2004. Dissecting the metastatic cascade. *Nature reviews cancer*, 4, 448-456.
- PANTEL, K., DOEBERITZ, M. K., IZBICKI, J. & RIETHMÜLLER, G. 1997. Disseminierte tumorzellen: Diagnostik, prognostische relevanz, phänotypisierung und therapeutische strategien. *Der Chirurg*, 68, 1241-1250.
- PARRINELLO, S., COPPE, J.-P., KRTOLICA, A. & CAMPISI, J. 2005. Stromal-epithelial interactions in aging and cancer: senescent fibroblasts alter epithelial cell differentiation. *Journal of cell science*, 118, 485-496.
- PASSERIEUX, E., ROSSIGNOL, R., LETELLIER, T. & DELAGE, J. 2007. Physical continuity of the perimysium from myofibers to tendons: involvement in lateral force transmission in skeletal muscle. *Journal of structural biology*, 159, 19-28.
- PATHAK, A. & KUMAR, S. 2012. Independent regulation of tumor cell migration by matrix stiffness and confinement. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109, 10334-10339.
- PÉREZ-MANCERA, P. A., YOUNG, A. R. & NARITA, M. 2014. Inside and out: the activities of senescence in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 14, 547-558.
- PERISANO, C., SPINELLI, M. S., GRACI, C., SCARAMUZZO, L., MARZETTI, E., BARONE, C., FABBRICIANI, C. & MACCAURO, G. 2012. Soft tissue metastases in lung cancer: a review of the literature. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 16, 1908-14.

- PFLAUM, T., HAUSLER, T., BAUMUNG, C., ACKERMANN, S., KUBALLA, T., REHM, J. & LACHENMEIER, D. W. 2016. Carcinogenic compounds in alcoholic beverages: an update. *Archives of toxicology*, 90, 2349-2367.
- PHAN, T. G. & CROUCHER, P. I. 2020. The dormant cancer cell life cycle. *Nature Reviews Cancer*, 20, 398-411.
- PLAZA, J. A., PEREZ-MONTIEL, D., MAYERSON, J., MORRISON, C. & SUSTER, S. 2008. Metastases to soft tissue: A review of 118 cases over a 30-year period. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 112, 193-203.
- PLUQUET, O., ABBADIE, C. & COQUERET, O. 2019. Connecting cancer relapse with senescence. *Cancer Letters*, 463, 50-58.
- POORTMANS, J. R., BOISSEAU, N., MORAINÉ, J.-J., MORENO-REYES, R. & GOLDMAN, S. 2005. Estimation of total-body skeletal muscle mass in children and adolescents. *Medicine & science in sports & exercise*, 37, 316-322.
- PRAUD, D., ROTA, M., REHM, J., SHIELD, K., ZATOŃSKI, W., HASHIBE, M., LA VECCHIA, C. & BOFFETTA, P. 2016. Cancer incidence and mortality attributable to alcohol consumption. *International journal of cancer*, 138, 1380-1387.
- PRICHARD, R. 1951. Tumors of heart: review of the subject and report of 150 cases. *Archives pathology*, 51, 98-128.
- PURSLOW, P. P. & TROTTER, J. A. 1994. The morphology and mechanical properties of endomysium in series-fibred muscles: variations with muscle length. *Journal of Muscle Research & Cell Motility*, 15, 299-308.
- RANDOLPH, G. J., ANGELI, V. & SWARTZ, M. A. 2005. Dendritic-cell trafficking to lymph nodes through lymphatic vessels. *Nature Reviews Immunology*, 5, 617-628.
- RAO, C. G., CHIANESE, D., DOYLE, G. V., MILLER, M. C., RUSSELL, T., SANDERS, R. A. & TERSTAPPEN, L. W. 2005. Expression of epithelial cell adhesion molecule in carcinoma cells present in blood and primary and metastatic tumors. *International journal of oncology*, 27, 49-57.
- REIMERS, N. & PANTEL, K. 2019. Liquid biopsy: novel technologies and clinical applications. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 57, 312-316.
- REITER, M. & KOSLOWSKI, G. 2024. *Pneumologie - unsere Krankheitsbilder unter dem Mikroskop* [Online]. Caritas Klinikum Saarbrücken. Available: <https://www.caritasklinikum.de/kliniken-zentren/fachabteilungen-st.-theresia/kardiologie-pneumologie/einblick-in-unseren-alltag-schauen-sie-mal-rein/pneumologie-unsere-krankheitsbilder-unter-dem-mikroskop> [Accessed 13.04 2024].
- REYNEN, K., KÖCKERITZ, U. & STRASSER, R. 2004. Metastases to the heart. *Annals of oncology*, 15, 375-381.
- RIETHDORF, S., WIKMAN, H. & PANTEL, K. 2008. Biological relevance of disseminated tumor cells in cancer patients. *International journal of cancer*, 123, 1991-2006.
- RIIHIMÄKI, M., HEMMINKI, A., FALLAH, M., THOMSEN, H., SUNDQUIST, K., SUNDQUIST, J. & HEMMINKI, K. 2014. Metastatic sites and survival in lung cancer. *Lung cancer*, 86, 78-84.
- SAITOH, M. 2018. Involvement of partial EMT in cancer progression. *The Journal of Biochemistry*, 164, 257-264.
- SANKPAL, N. V., FLEMING, T. P., SHARMA, P. K., WIEDNER, H. J. & GILLANDERS, W. E. 2017. A double-negative feedback loop between EpCAM and ERK contributes to the regulation of epithelial–mesenchymal transition in cancer. *Oncogene*, 36, 3706-3717.
- SARJEANT, J. M., BUTANY, J. & CUSIMANO, R. J. 2003. Cancer of the heart: epidemiology and management of primary tumors and metastases. *American Journal of Cardiovascular Drugs*, 3, 407-421.
- SKAPEK, S. X., FERRARI, A., GUPTA, A. A., LUPO, P. J., BUTLER, E., SHIPLEY, J., BARR, F. G. & HAWKINS, D. S. 2019. Rhabdomyosarcoma. *Nature reviews disease primers*, 5, 1.

- SOMMER, J. R. & WAUGH, R. 1978. Ultrastructure of heart muscle. *Environmental health perspectives*, 26, 159-167.
- SOSA, M. S., BRAGADO, P. & AGUIRRE-GHISO, J. A. 2014. Mechanisms of disseminated cancer cell dormancy: an awakening field. *Nature Reviews Cancer*, 14, 611-622.
- SPERANDEO, M., TROVATO, F. M., MELILLO, N., DIMITRI, L., MUSUMECI, G. & GUGLIELMI, G. 2017. The role of ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy in musculoskeletal diseases. *European Journal of Radiology*, 90, 234-244.
- STEINER, G., FREUND, H. A., LEICHTENTRITT, B. & MAUN, M. E. 1946. Lesions of skeletal muscles in rheumatoid arthritis: nodular polymyositis. *The American journal of pathology*, 22, 103-145.
- STEPHENSON, R. S., AGGER, P., LUNKENHEIMER, P. P., ZHAO, J., SMERUP, M., NIEDERER, P., ANDERSON, R. H. & JARVIS, J. C. 2016. The functional architecture of skeletal compared to cardiac musculature: Myocyte orientation, lamellar unit morphology, and the helical ventricular myocardial band. *Clinical Anatomy*, 29, 316-332.
- STOECKLEIN, N. H. & KLEIN, C. A. 2010. Genetic disparity between primary tumours, disseminated tumour cells, and manifest metastasis. *International journal of cancer*, 126, 589-598.
- SUNG, H., FERLAY, J., SIEGEL, R. L., LAVERSANNE, M., SOERJOMATARAM, I., JEMAL, A. & BRAY, F. 2021. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71, 209-249.
- SUROV, A., HAINZ, M., HOLZHAUSEN, H.-J., ARNOLD, D., KATZER, M., SCHMIDT, J., SPIELMANN, R. P. & BEHRMANN, C. 2010. Skeletal muscle metastases: primary tumours, prevalence, and radiological features. *European radiology*, 20, 649-658.
- SUROV, A., KÖHLER, J., WIENKE, A., GUFLER, H., BACH, A. G., SCHRAMM, D., BEHRMANN, C. & SPIELMANN, R. P. 2014. Muscle metastases: comparison of features in different primary tumours. *Cancer Imaging*, 14, 1-8.
- TAN, K. K., DE LIMA LOPES JR, G. & SIM, R. 2009. How uncommon are isolated lung metastases in colorectal cancer? A review from database of 754 patients over 4 years. *Journal of gastrointestinal surgery*, 13, 642-648.
- THAKOR, A. S. & GAMBHIR, S. S. 2013. Nanooncology: the future of cancer diagnosis and therapy. *CA: a cancer journal for clinicians*, 63, 395-418.
- TSAI, J. H. & YANG, J. 2013. Epithelial–mesenchymal plasticity in carcinoma metastasis. *Genes & development*, 27, 2192-2206.
- TUOHETI, Y., OKADA, K., OSANAI, T., NISHIDA, J., EHARA, S., HASHIMOTO, M. & ITOI, E. 2004. Skeletal muscle metastases of carcinoma: a clinicopathological study of 12 cases. *Japanese journal of clinical oncology*, 34, 210-214.
- VALASTYAN, S. & WEINBERG, R. A. 2011. Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms. *Cell*, 147, 275-292.
- VAN DEURSEN, J. M. 2014. The role of senescent cells in ageing. *Nature*, 509, 439-446.
- VODANOVICH, D. A. & CHOONG, P. F. 2018. Soft-tissue sarcomas. *Indian journal of orthopaedics*, 52, 35-44.
- WACKERHAGE, H., HOFMANN, M. & WESSNER, B. 2018. Muskelapparat. In: *Molekulare Sport-und Leistungsphysiologie: Molekulare, zellbiologische und genetische Aspekte der körperlichen Leistungsfähigkeit*, BACHL, N., LÖLLGEN, H. TSCHAN, H. (Hrg.), 105-128.
- WANG, B., KOHLI, J. & DEMARIA, M. 2020. Senescent cells in cancer therapy: friends or foes? *Trends in cancer*, 6, 838-857.
- WEISS, E. & FRESE, K. 1974. Tumours of the skin. *Bulletin of the World Health Organization*, 50, 79-100.
- WENT, P., DIRNHOFER, S., SALVISBERG, T., AMIN, M. B., LIM, S. D., DIENER, P.-A. & MOCH, H. 2005. Expression of epithelial cell adhesion molecule (EpCam) in renal epithelial tumors. *The American journal of surgical pathology*, 29, 83-88.

- WENT, P. T., LUGLI, A., MEIER, S., BUNDI, M., MIRLACHER, M., SAUTER, G. & DIRNHOFER, S. 2004. Frequent EpCam protein expression in human carcinomas. *Human pathology*, 35, 122-128.
- WESTHOFF, C. C., RAMASWAMY, A., KALDER, M., LEBEAU, A., SINN, P. & DENKERT, C. 2023. Immunhistologie in der Mammadiagnostik. *Die Pathologie*, 44, 17-31.
- WHITAKER, R. H. 2010. Anatomy of the heart. *Medicine*, 38, 333-335.
- WILLIS, R. A. 1934. *The spread of tumours in the human body*, Nature, 133, 743.
- YEH, A. C. & RAMASWAMY, S. 2015. Mechanisms of cancer cell dormancy—another hallmark of cancer? *Cancer research*, 75, 5014-5022.
- ZHOU, H., LEI, P.-J. & PADERA, T. P. 2021. Progression of metastasis through lymphatic system. *Cells*, 10, 627.

7 Abkürzungsverzeichnis

BMI	Body-Mass-Index
bspw.	beispielsweise
CTCs	zirkulierende Tumorzellen
DTCs	disseminierte Tumorzellen
EMT	epitheliale-mesenchymale Transition
EPCAM	<i>Epithelial Cell Adhesion Molecule</i>
FFPE	Formalin-fixed paraffin-embedded
H.E.	Hämatoxylin-Eosin
HPV	humanes Papillomavirus
H. pylori	Helicobacter pylori
M.	Musculus
MRD	<i>minimal residual disease</i>
PMI	postmortales Intervall
SASP	Seneszenz-assoziiertes sekretorischer Phänotyp
s. o.	siehe oben
s. u.	siehe unten
UKE	Universitätsklinikum Eppendorf
vgl.	Vergleiche

8 Abbildungsverzeichnis

<i>Abb. 1: Nicht aktiv modifizierbare Faktoren der Tumorgenese</i>	7
<i>Abb. 2: Krebsfälle in Deutschland 2018 – Anteile (%) und absolute Zahlen der durch vermeidbare Krebsrisikofaktoren bedingten Erkrankungen (Gredner et al. 2018)</i>	8
<i>Abb. 3: Prozess der Metastasierung</i>	9
<i>Abb. 4: Aufbau des Skelettmuskels</i>	18
<i>Abb. 5: Aufbau der Herzwand</i>	19
<i>Abb. 6: Detektion der disseminierten Tumorzellen (DTCs)</i>	21
<i>Abb. 7: Abfolge der Probenentnahme</i>	22
<i>Abb. 8: Keratin-positive Einzelzellen (oben links) und Cluster (oben rechts) im Musculus psoas und in der Metastase (unten) bei einem Verstorbenen der Tumorkohorte</i>	30
<i>Abb. 9: Epithelial Cell Adhesion Molecule-(EpCAM)-positive Einzelzellen (oben links) und Cluster (oben rechts) im Musculus psoas und in der Metastase (unten) bei einem Verstorbenen der Tumorkohorte</i>	31
<i>Abb. 10: Keratin-positive Einzelzelle (links) und Cluster (rechts) im Musculus psoas bei einem Verstorbenen der Kontrollkohorte</i>	33
<i>Abb. 11: Immunhistochemischer Nachweis von Keratin (1), Epithelial Cell Adhesion Molecule (EpCAM, 2), des Östrogen-Rezeptors (ER, 3) und des Transkriptionsfaktors GATA-3 (4) – positive Einzelzellen im Musculus psoas (linke Spalte) und Primärtumor (rechte Spalte) bei dem Verstorbenen mit der Identifikationsnummer 16</i>	34
<i>Abb. 12: Keratin-(CK)-positive Zellen im Endo-, Peri- und Epimysium des Musculus psoas bei Verstorbenen der Tumorkohorte</i>	36
<i>Abb. 13: Epithelial Cell Adhesion Molecule-(EpCAM)-positive Zellen im Endo- und Perimysium des Musculus psoas bei Verstorbenen der Tumorkohorte</i>	36
<i>Abb. 14: Keratin-(CK)-positive Zellen im Endo-, Peri- und Epimysium des Musculus psoas bei Verstorbenen der Kontrollgruppe</i>	38
<i>Abb. 15: Keratin-positive Einzelzellen (oben links) und Cluster (oben rechts) im Musculus papillaris und in der Metastase (unten) bei einem Verstorbenen der Tumorkohorte</i>	39
<i>Abb. 16: Verteilung des Auftretens von Keratin-(CK)-positiven DTCs im Skelettmuskel der Tumorkohorte (Gruppe 1, hellblau) und der Kontrollgruppe (Gruppe 0, dunkelblau) – Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben</i>	41

Abb. 17: Verteilung des Auftretens von Epithelial Cell Adhesion Molecule-(EpCAM)-positiven DTCs im Skelettmuskel der Tumorkohorte (Gruppe 1, hellblau) und der Kontrollgruppe (Gruppe 0, dunkelblau) – Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben..... 42

Abb. 18: Verteilung des Auftretens von Keratin-(CK)-positiven DTCs im Herzmuskel der Tumorkohorte (Gruppe 1, hellblau) und der Kontrollgruppe (Gruppe 0, dunkelblau) – Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben..... 43

9 Tabellenverzeichnis


<i>Tab. 1: Häufigste benigne und maligne Tumoren im Skelettmuskel und im Herzen (absteigende Reihenfolge) (Sarjeant et al. 2003, Agamanolis et al. 1986).....</i>	<i>15</i>
<i>Tab. 2: Verwendete Färbungen.....</i>	<i>23</i>
<i>Tab. 3: Überblick über die Tumorerkrankungen in der Tumorkohorte</i>	<i>26</i>
<i>Tab. 4: Demographische Daten der Verstorbenen der Tumorkohorte.....</i>	<i>27</i>
<i>Tab. 5: Kontrollgruppe: Todesursache und demographische Daten</i>	<i>28</i>
<i>Tab. 6: Keratin-(CK)- und Epithelial Cell Adhesion Molecule-(EpCAM)-positive Zellen und Cluster im Skelettmuskel (Musculus psoas) der Krebskohorte.....</i>	<i>29</i>
<i>Tab. 7: Keratin-(CK)- und Epithelial Cell Adhesion Molecule-(EpCAM)-positive Zellen und Cluster im Skelettmuskel (Musculus psoas) der Kontrollgruppe</i>	<i>32</i>
<i>Tab. 8: Lokalisation der Keratin-(CK)- und Epithelial Cell Adhesion Molecule-(EpCAM)-positiven Zellen und Cluster im Skelettmuskel (Musculus psoas) der Tumorkohorte</i>	<i>35</i>
<i>Tab. 9: Lokalisation der Keratin-(CK)- und Epithelial Cell Adhesion Molecule-(EpCAM)-positiven Zellen und Cluster im Skelettmuskel (Musculus psoas) der Kontrollgruppe</i>	<i>37</i>
<i>Tab. 10: Keratin-(CK)- und Epithelial Cell Adhesion Molecule-(EpCAM)-positive Zellen und Cluster im Herzmuskel (Musculus papillaris) der Tumorkohorte</i>	<i>38</i>

10 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe, insbesondere ohne entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten, verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe. Das gilt insbesondere auch für alle Informationen aus Internetquellen.

Soweit beim Verfassen der Dissertation KI-basierte Tools („Chatbots“) verwendet wurden, versichere ich ausdrücklich, den daraus generierten Anteil deutlich kenntlich gemacht zu haben. Die „Stellungnahme des Präsidiums der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) zum Einfluss generativer Modelle für die Text- und Bilderstellung auf die Wissenschaften und das Förderhandeln der DFG“ aus September 2023 wurde dabei beachtet.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe. Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: 

11 Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei allen bedanken, die mich während der Zeit meiner Doktorarbeit begleitet und unterstützt haben.

Insbesondere gilt mein Dank meiner Doktormutter und Betreuerin Prof. Dr. Wikman-Kocher für die großartige Unterstützung und Betreuung während meiner Forschungsarbeit. Die regelmäßigen wissenschaftlichen Diskussionen und fachlichen Ratschläge haben mich und diese Arbeit enorm weitergebracht.

Die „Monday- und Lab Meetings“ gaben mir zusätzlich die Möglichkeit, mein Wissen außerhalb meines eigenen Projektes zu vertiefen und meine Fähigkeiten bezüglich des wissenschaftlichen Denkens und des Präsentierens von wissenschaftlichen Erkenntnissen auszubauen.

Mein Dank gilt auch Frau Dr. Fitzek für die Hilfe bei der Probengewinnung und die hilfreichen fachlichen Anregungen.

Ich möchte mich außerdem bei Herrn Dr. Lennartz bedanken, dass er sich die Zeit genommen hat, gemeinsam mit uns die zahlreichen Bilder und Proben durchzusehen.

Mein Dank gilt auch Frau Mirlacher und Frau Surmann, sowie den Mitarbeitenden des Instituts für Pathologie für die Unterstützung bei der Weiterverarbeitung der Proben.