

6 Zusammenfassung

Das Plasminogenaktivatorsystem spielt eine Schlüsselrolle in der Kaskade der tumorassoziierten Proteolyse, die zur Degradierung der extrazellulären Matrix (EZM) und Stromainvasion führt. Faktoren des Plasminogenaktivierungssystems, welches aus den Serinproteinasen Plasmin, Urokinase-Plasminogenaktivator (uPA) und *tissue-type* Plasminogenaktivator (tPA), den Serpin Inhibitoren Plasminogenaktivator Inhibitor Typ 1 und 2 (PAI-1 und 2) und dem uPA-Rezeptor (uPAR) besteht, wurden mit invasivem Tumorwachstum assoziiert.

Beim Mammakarzinom konnten uPA und PAI-1 als unabhängige prognostische Marker identifiziert werden. Insbesondere konnte gezeigt werden, dass PAI-1 und uPA auch in der Gruppe der lymphknotennegativen Mammakarzinome, für die prognostische Marker dringend benötigt werden, unabhängige Prognosefaktoren sind (Duffy *et al.* 1988,1990,1992, 1994; Jänicke *et al.* 1990, 1993; Foekens *et al.* 1992; Spyrtatos *et al.* 1992; Grondahl-Hansen *et al.* 1993; Ferno *et al.* 1996).

Die präzise zelluläre Lokalisation der Proteasen uPA, PAI-1 und tPA und vor allem der Ort ihrer Transkription ist weiterhin spekulativ, obwohl einige immunhistochemische und *in situ*-Hybridisierungs-Arbeiten zur Identifikation exprimierender Zellen sowie ihrer Proteine vorliegen.

In dieser Arbeit, bei der es sich um eine explorative Datenanalyse handelt, wurde die mRNA-Expression von uPA, PAI-1 und tPA an verschiedenen Mammaläsionen mittels *in situ*-Hybridisierung untersucht. Bedingt durch die kleine Fallzahl war im vorhinein klar, dass nur sehr deutliche Zusammenhänge bzw. Häufigkeitsunterschiede nachweisbar sein werden.

In Normalgeweben, Mastopathien und intraduktalen Mammakarzinomen (DCIS) konnten keine uPA mRNA-Expression nachgewiesen werden. Bei den invasiven Karzinomen wurden in 51 von 87 Fällen (59%) positive Hybridisierungssignale für uPA nachgewiesen, die mit schwacher bis moderater Intensität über Stroma- und Tumorzellen lokalisiert wurden. Für die Markierung über den tumornahen Stromazellen, die überwog, konnte ein statistisch auffälliger Zusammenhang mit dem Lymphknotenstatus festgestellt werden (lineare Assoziation P: 0,004).

Für die Protease PAI-1 konnten in einigen Fällen (6 von 11) im Normalgewebe und Mastopathien positive Hybridisierungssignale detektiert werden, die meistens über den

Stromazellen lokalisiert wurden. In den Stromazellen der meisten intraduktalen Karzinome (7 von 10) wurden überwiegend schwache Markierungen für PAI-1 festgestellt.

Invasive Karzinome zeigten in 77 von 87 Fällen (89%) positive Signale, die meistens über den tumornahen Stromazellen lokalisiert waren. Ein statistisch auffälliger Zusammenhang wurde für die stromale PAI-1-Expression und das „Grading“ ermittelt (P: 0,37), wobei höhergradige Tumoren mit stärker markierten Stromazellen einhergingen.

Die tPA-mRNA Expression wurde sowohl in benignen als auch malignen Veränderungen in verschiedenen Zelltypen nachgewiesen. In benignen Läsionen und DCIS-Fällen waren die Hybridisierungssignale ausschließlich über dem Lappchen- und Gangepithel lokalisiert. In den invasiven Karzinomen waren zusätzlich die Tumorzellen, sowie auch sehr wenige Stromazellen markiert.

Bei dem Vergleich der biochemischen Werte (ELISA) von uPA und PAI-1 mit den RNA-*in situ*-Analysen konnten keine statistisch signifikanten Zusammenhänge festgestellt werden. Es zeigte sich jedoch der Trend, dass die biochemischen Werte für PAI-1 mit zunehmendem „Grading“ steigen. Für beide Proteasen wurden höhere Werte bei dem Vorliegen einer Lymphknotenmetastasierung festgestellt (Anstieg der Mediane).

Stärkere Expressionsintensitäten waren tendenziell mit höheren biochemischen Werten assoziiert.

In situ-Analysen sind wichtig für das Verständnis zelltypabhängiger Expression von Proteasen wie uPA, PAI-1 und tPA und das Erkennen unterschiedlicher Expressionsmuster in verschiedenen Tumoren. Die Nutzung des therapeutischen Potentials zur Tumorbehandlung, welches durch Interaktionen mit dem Plasminogenaktivierungssystem gegeben ist, setzt ein detailliertes Verständnis dieser Prozesse voraus.

Vor dem Hintergrund der zunehmenden präoperativen Mammastanzen bei Mammatumoren sind diese *in situ*-Analysen besonders relevant. Hierbei entsteht ein Gewebsdefekt, der zu einer Entzündungsreaktion mit hohen PAI-1-Werten führt, sodass die biochemische Bestimmung (ELISA) auch fälschlicherweise positive Ergebnisse zeigen kann.

Mit *in situ*-Methoden kann differenziert werden, ob es sich um eine erhöhte Proteasenexpression im Rahmen des malignen Prozesses handelt oder um eine unspezifische Entzündungsreaktion.

Da es sich bei *in situ*-Analysen um semiquantitative Methoden handelt, können sie biochemische (ELISA) Bestimmungen nicht ersetzen, aber sinnvoll ergänzen.