

## **Methodenkopplung bildgebender Massenspektrometrie und Arraybasierter vergleichender genomischer Hybridisierung (aCGH) am papillären Schilddrüsenkarzinom**

*Martin Nipp<sup>1\*</sup>, Mareike Elsner<sup>2\*</sup>, Herbert Braselmann<sup>1</sup>, Sandra Rauser<sup>2</sup>, Axel Walch<sup>2</sup>, Horst Zitzelsberger<sup>1</sup>*

(1)Abteilung für Strahlenzytogenetik, Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg, Deutschland

(2) Institut für Pathologie, Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt (GmbH), Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg, Germany

\*Beide Autoren haben gleichwertig zu diesem Projekt beigetragen.

Bis zum heutigen Tag gibt es nur sehr wenige proteomische Arbeiten zum papillären Schilddrüsenkarzinom (PTC) verglichen mit der großen Anzahl an Studien auf genomischer Ebene. Matrix-unterstützte-Laser-Desorption/Ionisation bildgebende Massenspektrometrie (MALDI-IMS) kann verwendet werden, um aus örtlich definierten Geweberegionen Proteinprofile zu generieren, um auf diese Weise Veränderungen der Gewebehistologie mit den Veränderungen der Proteinprofile in den Geweberegionen zu korrelieren. Ebenso könnten sich auch neue Proteinbiomarker ermitteln lassen, die ausgehend von den ermittelten Proteinprofilen Aussage treffen können über Tumorprogression, Metastasierung oder Prognose. Arraybasierte vergleichende genomische Hybridisierung (aCGH) ist eine etablierte Screening Methode, um Kopienzahlveränderungen (CNAs) im Genom in hoher Auflösung zu finden. Unsere neuartige Methodenkopplung versucht erstmalig die genannte proteomische und den zytogenetische Technik in einem Ansatz zu kombinieren, um den Informationsgewinn aus oft sehr limitiert verfügbarem Patientenmaterial drastisch zu erhöhen

Unsere vorausgegangenen Arbeiten haben gezeigt, dass die MALDI-IMS-Ergebnisse nicht nur in hohem Maße mit den histologischen Befunden korrelieren sondern auch mit genomischen Befunden aus der aCGH. Daher haben wir mehr als 30 PTC-Gefrierschnitte mit MALDI-IMS und parallel 98 PTC mit aCGH untersucht.

Im nächsten Schritt wurde ein ausgewählter Fall für unsere Kombination beider Methoden an ein und demselben Gewebeschnitt verwendet. Hierbei präparierten wir für jeden kritischen Schritt des MALDI-IMS-Workflows einen Ansatz mit normalem Schilddrüsengewebe zusätzlich zum Tumorgewebe, die alle vom selben Spender stammten. Unsere Gewebeschnitte durchliefen hierbei zuerst einen völlig unveränderten etablierten MALDI-IMS-Workflow. Danach entwickelten wir einen speziell angepassten Ablauf für die nachfolgende DNA-Isolation, um aus dem bereits der MALDI-IMS unterzogenen Gewebeschnitt quantitativ genügend DNA in ausreichender Qualität für die aCGH gewinnen zu können, die danach wiederum nach unserem Standardprotokoll erfolgen konnte.

Wir konnten erfolgreich zeigen, dass sogar der übliche komplette MALDI-IMS-Workflow keinen signifikanten Einfluss auf die nachfolgende Hybridisierung hat, sofern der von uns vorgenommene Austausch des Einschlusmittels für die Lichtmikroskopie und eine vollständige Entfernung der Matrix vor Beginn der DNA-Isolierung erfolgreich vorgenommen wurden. Alle Tumorgenomprofile aus der aCGH zeigten nahezu identische CNAs. Die Profile der Normalgewebe wiesen hingegen keine erkennbaren CNAs auf.

Unserer Ansicht nach könnte diese Kombination beider Methoden an ein und demselben Gewebeschnitt ein vielversprechendes, neuartiges Verfahren darstellen, um aus einem Ansatz zu einigen neuen sowohl proteomischen als auch genomischen Markern zu gelangen. Zudem sollte die Verwendung desselben Ausgangsmaterials auch zu einer höheren Übereinstimmung und Genauigkeit der Ergebnisse als bei Folgeschnitten führen, die gerade bei der bekannten Tumorerogenität des PTC sehr wünschenswert ist. Der größte Vorteil jedoch ist die Möglichkeit, nun auch kleinere Gewebeschnitte beiden Methoden zuführen zu können und wertvolles Tumorgewebe nun sparsamer einsetzen zu können.