

# MedReview

Die Zeitschrift für ärztliche Fortbildungskongresse

HOHE SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

## OSNA – die Zukunft der Sentineldiagnostik?

CHRISTIAN SCHEM, KIEL

**E**ine intra-operative Detektion von Metastasen im Sentinel-Lymphknoten ermöglicht es, in gleicher Sitzung sofort eine axilläre Lymphknoten-Dissektion durchzuführen. Auf diese Weise wird etwa 10–15 % der Brustkrebspatienten eine Zweitoperation erspart. Gegenwärtig wird die intra-operative Diagnostik mit Schnellverfahren in Form von H&E (Hämatoxylin-Eosin) gefärbten Gefrierschnitten („Frozen Sections“) oder einer Touch-Imprint Zytologie durchgeführt (Abb.). Der Nachteil beider Methoden liegt in der Anzahl falsch negativer Ergebnisse, da in der Kürze der Zeit nur ein Teil des Lymphknotens analysiert werden kann. Die in der Literatur beschriebene Sensitivität der intra-operativen Diagnostik schwankt zwischen 55 % und 91 % und scheint stark untersucherabhängig. Eine routinemäßig vollständige histopathologische Untersuchung des Lymphknotens erfolgt meist post-operativ.

### Neues Diagnostikverfahren

Um auch intra-operativ eine schnelle und vollständige Untersuchung des Sentinel-Lymphknotens zu ermöglichen, wurde ein innovatives molekularbiologisches Diagnostikverfahren entwickelt, welches derzeit an unserem Zentrum in Kiel im Rahmen einer klinischen Studie zum Einsatz kommt. Hierbei

Der traditionell stärkste Prognosefaktor beim Mammakarzinom ist der axilläre Lymphknoten-Status. Die klassische Axilladissektion war lange der Goldstandard in der Behandlung des Mammakarzinoms. Ein Paradigmenwandel in der chirurgischen Behandlung des Mammakarzinoms führte in den frühen 90er Jahren zur Einführung des Konzeptes der Sentinel-Lymphknoten-Biopsie. Bei diesem Konzept führt nur ein tumorbefallener, positiver Sentinel-Lymphknoten (Wächterlymphknoten) zur vollständigen Entfernung aller axillären Lymphknoten. Enthält jedoch der Sentinel-Lymphknoten keine Metastase(n), kann auf diese radikale Operation verzichtet werden. Somit kann die mit diesem Eingriff einhergehende Morbidität entscheidend verringert werden.

wird die mRNA-Konzentration von Zytokeratin 19 (Marker für Epithelzellen) in Lymphknotenmetastasen bei Mammakarzinompatientinnen quantitativ und standar-

disiert gemessen (Abb.). Im tumorfreien Lymphknoten finden sich normalerweise keine epithelialen Zellen, somit erscheint dieser Marker zur Detektion einer Lymph-



Dr.  
Christian Schem

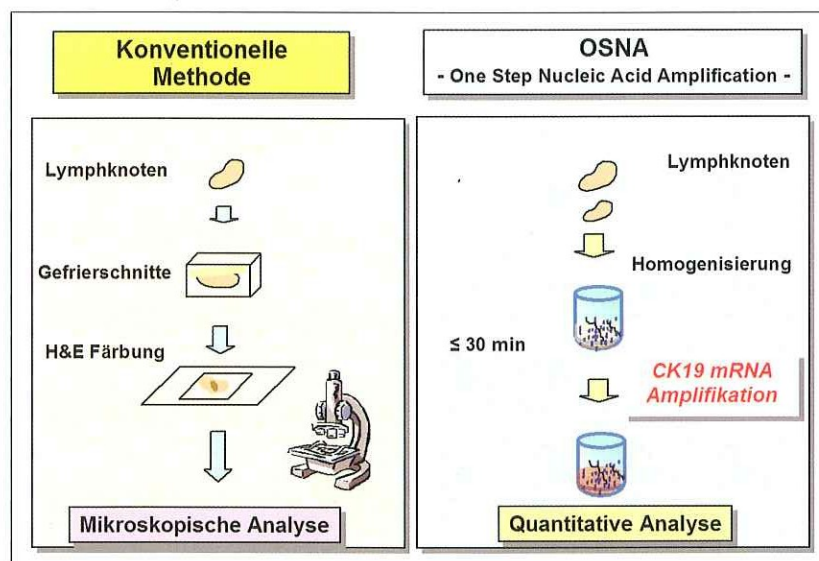


Abb.: Konventionelle histopathologische Diagnostik und innovatives OSNA-Verfahren zur Detektion von Metastasen im Sentinel-Lymphknoten.

knotenmetastase ideal. Bisherige Untersuchungen an kleineren Kollektiven zeigten, dass alle Makrometastasen und die meisten Mikrometastasen mit dieser innovativen Methode nachgewiesen werden konnten.

### **Schnelle Ergebnisse**

Das von der Firma Sysmex entwickelte Verfahren zur Detektion von Metastasen nennt sich OSNA (One-Step Nucleic Acid Amplification). Die Amplifikation erfolgt direkt vom Lymphknoten-Lysat ohne vorherige Aufreinigung der mRNA. Für die Amplifikation wird ein spezielles Verfahren (Reverse-Transcriptase Loop-Mediated Isothermal Amplification, RT-LAMP) verwendet, das in automatisierter Form nach 16 Minuten das Ergebnis liefert. Die Gesamtzeit der Analyse vom Eintreffen der Lymphknoten bis zum Abschluss der Amplifikationsreaktion beträgt 30 Minuten.

### **OSNA vs. histopathologische Untersuchung**

Um diese neue Methode mit der derzeit eingesetzten histopathologischen Untersuchung zu verglei-

chen, haben wir Lymphknoten unmittelbar nach der Entnahme geviertelt und je zwei Viertel (immun-)histopathologisch bzw. molekularbiologisch untersucht. Für die histopathologische Vergleichsmethode wurde in 5 Stufen mit 200  $\mu\text{m}$  Abstand, jeweils eine H&E-Färbung, eine immunohistochemische Färbung mit dem Zytokeratin-Antikörper LU5 und eine immunohistochemische Färbung mit einem CK19-spezifischen Antikörper durchgeführt.

Die Zwischenanalyse von bislang 90 Proben zeigte eine Übereinstimmung zwischen OSNA und der histopathologischen Untersuchung von 93,9 % (84/90) und eine Sensitivität von 100 %. Es ist anzunehmen, dass ein Teil der unterschiedlichen Ergebnisse auf der ungleichen Verteilung der Metastase(n) in den untersuchten Vierteln beruht. Zur weiteren Analyse dieser Hypothese wird in den diskordanten Fällen der komplette Lymphknoten in 200  $\mu\text{m}$ -Stufen aufgearbeitet, um alle eventuell vorliegenden Mikrometastasen zu detektieren. In einem diskordanten Fall konnte das positive OSNA-Ergebnis bereits durch mehrere iso-

lierte Tumorzellen in der detaillierten immunohistochemischen Färbung bestätigt werden. Im weiteren Verlauf der Studie, die am Ende 350 Lymphknoten umfassen soll, wird die Sensitivität und Spezifität von OSNA ermittelt.

### **Resümee**

Bereits in dieser Zwischenanalyse unserer Untersuchung erweist sich OSNA und der Nachweis von Zytokeratin 19 als exzellenter Ansatz zur Detektion von Lymphknotenmetastasen beim Mammakarzinom. Sollte sich dieser Eindruck in der Endanalyse bestätigen, kann OSNA entscheidend zu einer verbesserten, untersucherunabhängigen intra-operativen Diagnostik beitragen und so die Anzahl der Zweitoperationen weiter reduzieren.

#### **Korrespondenzadresse:**

**Dr. med. Christian Schem**  
Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe  
Campus Kiel  
Universitätsklinikum Schleswig-Holstein  
Michaelisstr. 16  
24105 Kiel  
schemc@email.uni-kiel.de