

OSNA® für die Lymphknotenanalyse beim Kolonkarzinom – Verbessertes Staging durch optimierte Bestimmung des Nodalstatus

Der Lymphknotenstatus ist der wichtigste prognostische Faktor und Stagingparameter bei der Behandlung von Darmkrebs. Für Patienten, deren Lymphknoten keinen Metastasebefall aufweisen, ist gemäß der Therapierichtlinien eine adjuvante Chemotherapie nicht indiziert. Ausgenommen hiervon sind Hochrisikopatienten, bei denen eine adjuvante Chemotherapie erwogen werden kann. Ein korrektes Staging ist daher maßgeblich, um im Hinblick auf den einzelnen Patienten die optimalen klinischen Entscheidungen treffen zu können.

Für die Beurteilung des Lymphknotenstatus beim Kolonkarzinom ist, basierend auf den derzeitigen Richtlinien, die Begutachtung von mindestens 12 Lymphknoten empfohlen. Bei der postoperativen histopathologischen Aufarbeitung ist die mikroskopische Untersuchung einer Schnittstufe des Lymphknotengewebes nach HE-Färbung allgemeiner Standard. Bis zu 30% der im Stadium II klassifizierten Patienten erleiden jedoch innerhalb von 5 Jahren nach der Operation ein lokales Rezidiv oder es kommt zu Fern-

metastasen, was zu deutlich schlechteren Überlebensraten führt [1]. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass bei einer relevanten Anzahl von Patienten – bedingt durch den geringen Gewebeanteil, der analysiert wird – Metastasen in Lymphknoten übersehen werden. Basierend auf erheblichen falsch-negativ Raten (11–24% [2]), werden diese Patienten in einem zu niedrigen Krebsstadium klassifiziert mit den entsprechenden Konsequenzen für weitere Therapieentscheidungen.

Beim Kolonkarzinom hat sich das Konzept der Wächterlymphknoten-Biopsie (SLN-Biopsie) aufgrund der hohen falsch negativ Raten bis dato noch nicht etabliert. Ebenso ist die eingehende Untersuchung aller resezierten Lymphknoten durch histologische Aufarbeitung in Serienschnitten oder mittels IHC-Färbung (Ultrastaging) zeit- und kostenintensiv und daher nicht Teil der Routinepraxis.

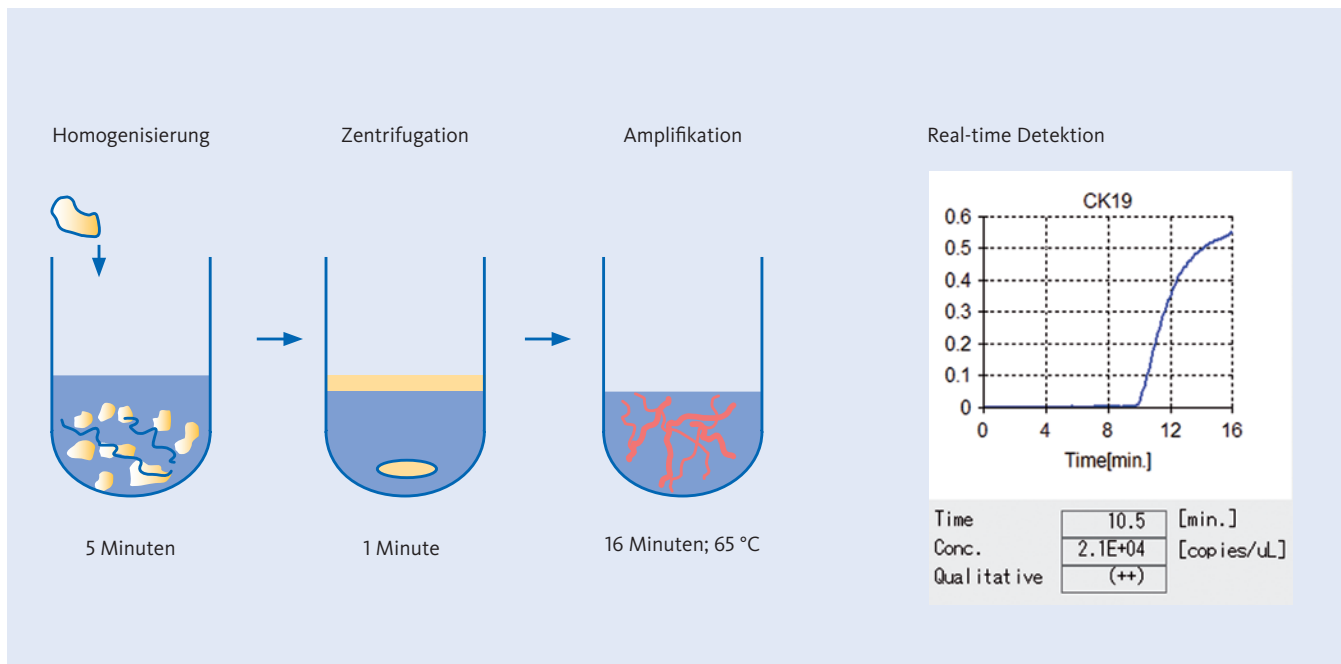


Abb. 1: OSNA® Ablaufplan

Lymphknotenanalyse mit OSNA®

Das molekulardiagnostische Testverfahren OSNA® (One Step Nucleic-Acid Amplification), das beim Mammakarzinom bereits zum Nachweis von Lymphknotenmetastasen eingesetzt wird, stellt eine optimale Lösung für die intensive Analyse des Lymphknotenstatus bei Patienten mit Kolonkarzinom dar und ermöglicht ein verbessertes Staging. OSNA® ist ein automatisiertes Analyseverfahren und basiert auf einer Technologie zur schnellen Amplifizierung von Nukleinsäuren (RT-LAMP*). Es ermöglicht die Bestimmung der zellulären Zytokeratin 19 (CK19)-mRNA-Expression. CK19 ist als Epithelzellmarker im tumorfreien Lymphknotengewebe nicht nachweisbar. Das Lymphknotengewebe wird in einem einfachen Schritt homogenisiert. Im Anschluss an einen kurzen Vorbereitungsschritt werden die Proben im RD-100i, einem automatisierten Echtzeit-System, analysiert. Bis zu vier Proben können parallel bearbeitet werden. Die Ergebnisse stehen nach etwa 30 Minuten zur Verfügung (Abb. 1).

In direkter Abhängigkeit von der gemessenen CK19-mRNA-Kopienzahl erhält man die Ergebnisse in drei Kategorien (++ , + , -). Dies ermöglicht nicht nur die Unterscheidung von positiven und negativen Ergebnissen, sondern gibt einen Hinweis auf die Größe der Metastasen. Da OSNA® die Analyse des ganzen Lymphknotens ermöglicht, bietet die Methode ein hohes Maß an Sensitivität und somit eine zuverlässige Grundlage für klinische Entscheidungen.

- höhere Sensitivität im Vergleich zu herkömmlichen Methoden
- automatisiertes und standardisiertes Verfahren
- verbessertes Staging
- schnellere Verfügbarkeit der Ergebnisse, sofern gewünscht auch intraoperativ
- reduzierter Arbeitsaufwand für das pathologische Labor

* RT-LAMP = Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification, lizenziert von Eiken Chemical Co., Ltd

Klinische Validierungsstudien und deren Ergebnisse

Die Eignung von CK19 als Marker wurde bereits in der Entwicklungsphase aufgezeigt. Die Expressionsrate von CK19 wurde im Vergleich zu anderen potentiellen Markern anhand histopathologisch positiver und negativer Lymphknoten untersucht (Abb. 2). Dabei erwies sich CK19 aufgrund seiner hohen Sensitivität und Spezifität als geeigneter Marker zur Detektion von Lymphknotenmetastasen beim Kolonkarzinom.

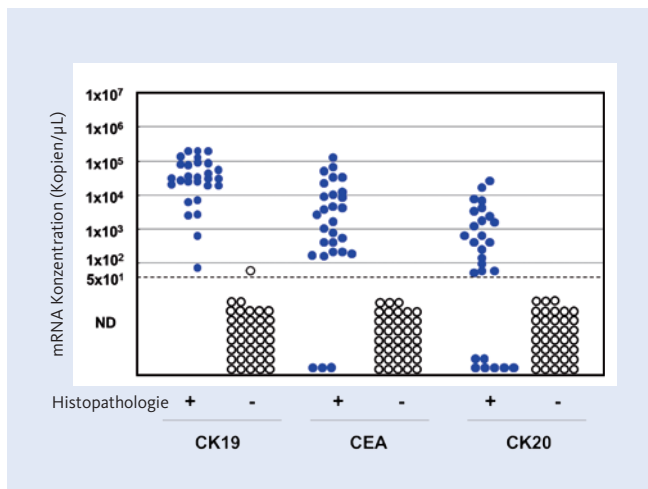


Abb. 2: Analyse von 28 positiven Lymphknoten von 19 Patienten und 38 negativen Lymphknoten von 11 pNo Patienten

In den Validierungsstudien [3–5] wurde OSNA® mit einer sehr ausführlichen histopathologischen Untersuchung verglichen. Dazu wurden die Lymphknoten in 4 Scheiben geschnitten. Zwei alternierende Scheiben wurden mit OSNA® analysiert, die beiden Vergleichsproben fixiert und histologisch aufgearbeitet. Für jede Scheibe wurden Schnitte in fünf Stufen im Abstand von 200 μm angefertigt. Die Analyse von insgesamt etwa 1.000 Lymphknoten ergab die folgenden Daten für die OSNA®-Methode:

Konkordanzrate	96.7 %
Sensitivität	95.0 %
Spezifität	97.1 %

Im Rahmen einer japanischen Studie wurden 136 Lymphknoten von pNO-Patienten analysiert und die Spezifität des OSNA®-Verfahrens bestätigt [4].

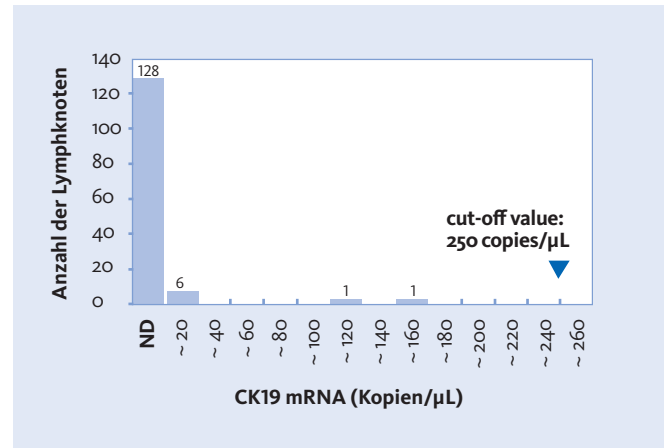


Abb. 3: Analyse von 136 Lymphknoten von pNO-Patienten

Die CK19-mRNA-Kopienzahl lag bei allen Proben deutlich unter dem Cut-off-Wert und ergab eine Spezifitätsrate von 100 %. Damit kann das Risiko falsch-positiver Ergebnisse nahezu ausgeschlossen werden (Abb. 3). In den Validierungsstudien ergaben sich erste Hinweise auf das Upstaging-Potenzial der Methode. In einer weiteren klinischen Studie, die gerade abgeschlossen wurde und deren Daten in Kürze veröffentlicht werden, konnte dies bestätigt werden. Die Lymphknotenanalyse von pNO Patienten mit OSNA® führte im Vergleich zur herkömmlichen histologischen Untersuchungsmethode zu einer Upstaging-Rate von etwa 26 %.

OSNA® in der klinischen Routine

Die einfache Vorbereitung der Proben in Verbindung mit der hohen Reaktionsgeschwindigkeit gewährleisten ein Höchstmaß an Flexibilität beim routinemäßigen Einsatz des Systems. Optional können bei Anwendung der Sentinelbiopsie eine intraoperative Analyse der Sentinellymphknoten (lokalisiert durch *in-vivo*-Mapping), die postoperative Untersuchung der Sentinellymphknoten (*ex-vivo*-Mapping) sowie das Ultrastaging multipler Lymphknoten durchgeführt werden.

Intraoperative Analyse	<i>In-vivo</i> -SLN-Mapping	bis zu 4 LN innerhalb von 40 Minuten
Postoperative Analyse	<i>Ex-vivo</i> -SLN-Mapping	bis zu 4 LN innerhalb von 40 Minuten
Postoperative Analyse	Lymphknoten, frisch oder gefroren	12 LN oder mehr innerhalb von 2 Stunden

Mit dem OSNA®-System steht ein optimiertes Testverfahren für die verschiedenen klinischen Anforderungen zur Verfügung, die dem Ziel dienen, das Staging zu verbessern und optimale klinische Entscheidungen für Patienten mit Kolonkarzinom zu ermöglichen.

- schnelle und präzise Ergebnisse
- optimiertes Staging und Patientenmanagement
- zuverlässige Basis für klinische Entscheidungen
- schnellerer Therapiebeginn

Referenzen

- [1] **Jemal A et al.** (2009): *Cancer Statistics, 2009*. *CA Cancer J Clin* 59 : 225 – 249.
- [2] **Rahbari NN et al.** (2012): *Molecular detection of tumor cells in regional lymph nodes is associated with disease recurrence and poor survival in node-negative colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis*. *J Clin Oncol* 30(1) : 60 – 70.
- [3] **Croner et al.** (2010): *One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) – a new method for lymph node staging in colorectal carcinomas*. *J Transl Med* 8 : 83.
- [4] **Yamamoto et al.** (2011): *OSNA-Based Novel Molecular Testing for Lymph Node Metastases in Colorectal Cancer Patients*. *Ann Surg Oncol* 8 : 1891 – 8.
- [5] **Güller et al.** (2012): *Epub – Molecular investigation of lymph nodes in colon cancer patients: a new road to better staging?* *Cancer* doi : 10.1002/cncr.27667.

Änderungen des Designs sowie Spezifikationsänderungen basierend auf fortschreitender Produktentwicklung behalten wir uns vor. Solche Änderungen werden bei Neuauflegenscheinungen bestätigt und anhand des neuen Ausstellungsdatums verifiziert.

© Copyright 2015 – Sysmex Europe GmbH

Vertrieb Deutschland: Sysmex Deutschland GmbH

Bornbarch 1, 22848 Norderstedt, Deutschland · Telefon +49 40 534102-0 · +49 40 5232302 · lifescience@sysmex-europe.com · www.sysmex.de

Vertrieb Österreich: Sysmex Austria GmbH

Odoakergasse 34–36, 1160 Wien, Österreich · Telefon +43 1 4861631 · Fax +43 1 486163125 · office@sysmex.at · www.sysmex.at

Vertrieb Schweiz: Sysmex Suisse AG

Tödistrasse 50, 8810 Horgen, Schweiz · Telefon +41 44 718 38 38 · Fax +41 44 718 38 39 · info@sysmex.ch · www.sysmex.ch

EU Bevollmächtigter: Sysmex Europe GmbH

Bornbarch 1, 22848 Norderstedt, Deutschland · Telefon +49 40 52726-0 · Fax +49 40 52726-100 · lifescience@sysmex-europe.com · www.sysmex-europe.com

Hersteller: Sysmex Corporation

1-5-1 Wakinohama-Kaigandori, Chuo-ku, Kobe 651-0073, Japan · Telefon +81 78 265-0500 · Fax +81 78 265-0524 · www.sysmex.co.jp

Die für Ihre Region zuständige Sysmex Niederlassung finden Sie unter www.sysmex-europe.com/contacts