

Dr. Charlotte Giesen

Metallhaltige Krebsdiagnostik

Der vorliegende Beitrag wurde beim Deutschen Studienpreis 2012 mit einem 2. Preis in der Sektion Naturwissenschaften ausgezeichnet. Er beruht auf der 2011 an der Humboldt Universität zu Berlin eingereichten Dissertation »ICP-MS and Elemental Tags for the Life Sciences« von Dr. Charlotte Giesen.

Metallhaltige Krebsdiagnostik

Wettbewerbsbeitrag zur Teilnahme am Deutschen Studienpreis 2012

Dr. Charlotte Giesen

Krebs und Krebsvorsorge in unserer Gesellschaft

Krebs ist in unserer Gesellschaft die zweithäufigste Todesursache, und jedes Jahr erkranken ca. 450.000 Menschen in Deutschland neu an dieser Krankheit. Diese Zahlen belegen die große gesellschaftliche Relevanz einer zuverlässigen Diagnostik, welche für jeden Patienten individuell durchgeführt wird. Dabei spiegelt der hohe diagnostische Aufwand die damit verbundene ökonomische Bedeutung wider.

Für Frauen ist Brustkrebs die häufigste Krebserkrankung mit jährlich 59.510 Neuerkrankungen (3/2010 Deutsche Krebshilfe). Hier gilt der Grundsatz: Je früher die Erkrankung diagnostiziert wird, desto geringer ist die Sterblichkeitsrate. Aus diesem Grund wurde in Deutschland Anfang 2004 ein Mammografie-Screening in das gesetzliche Krebsfrüherkennungsprogramm aufgenommen, an dem jede Frau in einem Alter zwischen 50 und 69 alle zwei Jahre freiwillig teilnehmen kann. Bei einem positiven Befund im Röntgenbild werden weitere Untersuchungen veranlasst. In der Regel wird hierfür ein winziges Stück Gewebe des potenziellen Tumors entnommen, eine Biopsie, die von Fachärzten beurteilt wird. Um den Anfangsverdacht einer Krebserkrankung zu bestätigen oder zu widerlegen, bedarf es einer äußerst zuverlässigen Diagnostik. Dafür wird das entnommene Gewebe mithilfe eines Mikrotoms in nur wenige μm dünne Schichten geschnitten und auf einem Objektträger platziert. Diese Gewebedünnschnitte werden von Pathologen mikroskopisch untersucht. Da sich die einzelnen zellulären Bestandteile in ihrer optischen Dichte nur wenig unterscheiden, werden zur besseren Differenzierung Färbemethoden eingesetzt. Das gängigste Verfahren ist die Hämatoxylin- und Eosin (HE)-Färbung, mit der sich Zellkerne blau und Zellplasmaproteine rosa anfärben lassen. Das Gewebe kann nun eindeutiger einer morphologischen Beurteilung unterzogen werden. Dabei achtet der Pathologe auf krankhafte Veränderungen wie anomales Zellwachstum oder vergrößerte Zellkerne, die auf einen erweiterten Chromosomensatz hindeuten. Dies können Anzeichen einer Krebserkrankung sein. Erhärtet sich

der Anfangsverdacht, werden zusätzliche immunhistochemische Untersuchungen vom behandelnden Arzt angefordert.

Immunhistochemie

In der modernen Krebsdiagnostik wird anhand von entnommenem Gewebe ein Profil des Tumors erstellt, auf dessen Basis Diagnostik, Prognostik und Therapieentscheidungen erfolgen. Hierfür gibt es eine Vielzahl von individuellen Markern, die einen Tumor charakterisieren. Bei den Tumormarkern handelt es sich unter anderem um Rezeptoren der Zellen, welche im Zuge der Krebserkrankung überexprimiert sind. Als Beispiel sei hier der Her2/neu Rezeptor genannt, der in etwa 25% der Brustkrebsfälle eine erhöhte Anzahl an Kopien aufweist. Die Ursache hierfür liegt meistens in einer Genamplifikation des c-erbB-2-Genes, welches den Her2/neu-Rezeptor codiert. Es ist zum einen möglich, die ursächliche erhöhte Genamplifikation nachzuweisen. Zum anderen kann mithilfe dieses Markers der therapeutische Nutzen einer Behandlung mit Trastuzumab (Herceptin[®]) abgeschätzt werden. Dabei ist es jedoch wichtig zu beurteilen, in welchem Maße der Tumormarker überexprimiert ist. Denn auch in gesundem Gewebe ist der Her2/neu-Rezeptor zu finden, wenn auch in deutlich geringerer Häufigkeit. Diese Untersuchungen basieren auf immunhistochemischen Färbemethoden (Abbildung 1): Die charakteristischen Tumormarker werden von hochspezifischen Antikörpern erkannt. Ein zweiter Antikörper, der den ersten Antikörper ebenfalls hochspezifisch erkennt, trägt ein organisches Farbstoffmolekül, um die erfolgte Bindung zu visualisieren, wobei eine Färbung die Existenz des jeweiligen Tumormarkers indiziert. Die Beurteilung der gefärbten Gewebeschnitte hängt im Wesentlichen vom Erfahrungsschatz des behandelnden Arztes ab. Wie hier eine Vergleichbarkeit zwischen medizinischen Laboren hergestellt werden kann, beschäftigt die Fachwelt schon länger.¹ So ist eine Vergleichbarkeit der Studien untereinander häufig nicht gegeben, was auch für sehr gut untersuchte und häufig eingesetzte Markersysteme wie Her2/neu gilt.²

Im Falle eines positiven Befundes kommen auch bei den Patienten Fragen auf wie: Ist das Ergebnis unumstößlich? Wie sicher ist der Arzt in seiner Diagnose? Führt eine zweite Meinung vielleicht zu einem anderen Ergebnis? Es ist das Ziel meiner Arbeit, diese Fragen eindeutig zu beantworten.

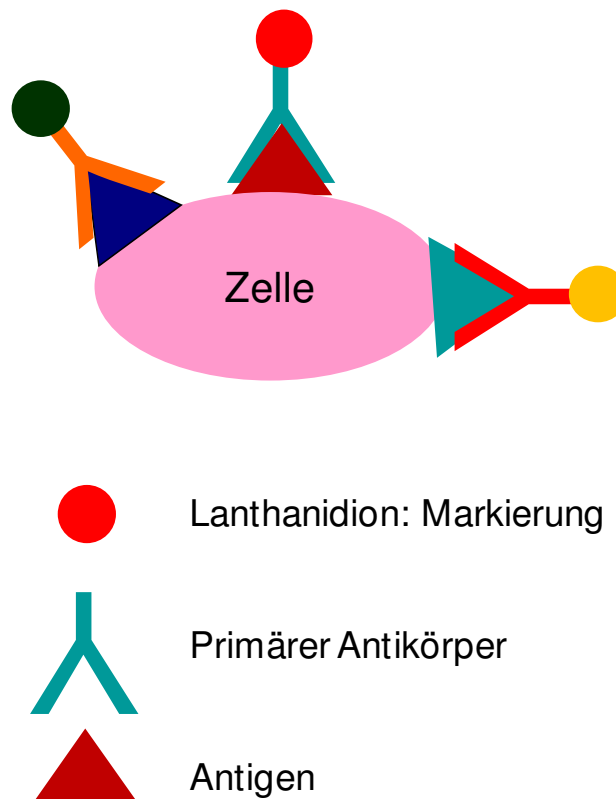


Abbildung 1: Direkter immunhistochemischer Assay. Das Antigen auf der Zelloberfläche wird von einem hochspezifischen primären Antikörper erkannt. Dieser trägt als Markierung Lanthanidionen, die zur späteren Identifizierung während der Messung dienen.

Der Zeitfaktor

Um ein Profil des Tumors zu erstellen, werden typischerweise bis zu 20 Tumormarker pro Patient untersucht, wobei die Bewertung eines einzigen Tumormarkers ein bis zwei Tage in Anspruch nehmen kann. Somit kommt hier ein erheblicher Zeitfaktor ins Spiel, der den Patienten für eine Therapie verloren geht. In kritischen Fällen kann diese Zeitverzögerung bereits lebensbedrohlich sein. Daher ist es von hoher Bedeutung, dass der Patient seine Diagnose so schnell wie möglich erhält. In der klassischen immunhistochemischen Diagnostik können zwar durch die Verwendung von primären Antikörpern verschiedener Wirtsspezies und den zugehörigen sekundären Antikörpern mit jeweils unterschiedlichen organischen Farbstoffen Tumormarker auch simultan bestimmt werden. Doch stößt man hier schnell an die Grenzen des Machbaren aufgrund der begrenzten Anzahl an verfügbaren Wirtsspezies und an funktionierenden Antikörpersystemen. Sind Tumormarker kolokalisiert, können sie mit dieser Methode überhaupt nicht simultan bestimmt werden. Eine resultierende Mischung der Farben macht dies unmöglich. Um hier eine schnellere Diagnostik zu ermöglichen, ist eine Technik notwendig, die verschiedene Tumormarker auf unterschiedlichen Kanälen unabhängig voneinander bestimmen kann. Diese hohe Multiplexfähigkeit ist ein wesentliches Merkmal der induktiv gekoppelten Plasma-

Massenspektrometrie (ICP-MS), welche üblicherweise zur Elementbestimmung eingesetzt wird. In einem Plasma von ca. 5500 K wird die untersuchte Probe in ihre elementaren Bestandteile zerlegt, welche dann von einem Massenspektrometer aufgezeichnet werden. Die Technik ist aufgrund ihrer hohen Empfindlichkeit und ihres großen dynamischen Messbereichs hervorragend für die Ultraspurenbestimmung geeignet. Diese Charakteristika machen sie jedoch auch zu einem ausgezeichneten Werkzeug für biologische Fragestellungen, in denen viele Analyten in sehr geringen Konzentrationen neben höher konzentrierten Spezies vorliegen. Für den Erhalt der räumlichen Information der Proben kann eine Kopplung der ICP-MS mit der Laserablation (LA) erfolgen. Diese Herangehensweise eignet sich für feste Proben, deren räumliche Information während der Analyse erhalten werden soll, und die ICP-MS wird auf diese Weise zu einer Methode, die als Element-Mikroskop eingesetzt werden kann.

Die Markierung

Die meisten Biomoleküle unterscheiden sich zwar in ihrer Struktur erheblich voneinander, jedoch kaum in ihrer elementaren Zusammensetzung. Um mittels der ICP-MS ein Biomolekül trotzdem eindeutig zu identifizieren, kann eine Elementmarkierung künstlich eingeführt werden.³ Die Verwendung der Seltenerdmetalle oder Lanthanoide ist hier sehr vorteilhaft, da sie in biologischen Systemen praktisch nicht präsent sind. Ein Lanthanoidsignal kann also zweifelsfrei einer künstlich eingeführten Elementmarkierung zugeordnet werden, was eine wichtige Voraussetzung für eine ideale Markierungsstrategie darstellt. Um die in der immunhistochemischen Diagnostik verwendeten Antikörper mit Lanthanoiden zu markieren, wurden in dieser Arbeit Komplexbildner eingesetzt. Sie weisen eine Käfigstruktur auf, welche so groß ist, dass sie genau ein dreiwertiges Lanthanoidion aufnehmen kann. Die entstehende Bindung zwischen Komplex und Metallion ist sehr stabil, und es findet auch in Mischungen solcher Komplexe, welche mit unterschiedlichen Lanthanoidionen gefüllt wurden, kein signifikanter Austausch der Ionen statt. Durch die sehr ähnliche Chemie der 14 Lanthanoide konnte ein und derselbe Komplex für eine Reihe verschiedener Metalle eingesetzt werden. Die universelle Kopplungstechnik ist eine entscheidende Voraussetzung für den Multiplexansatz.

Der Metallkomplex wurde über die Aminosäure Lysin an den primären Antikörper gebunden. Bei dieser Herangehensweise konnte sowohl auf die Verwendung von organischen Farbstoffen als auch auf sekundäre Antikörper verzichtet werden, welche eine Simultanbestimmung unterschiedlicher Parameter in der herkömmlichen immunhistochemischen Diagnostik bisher verhinderten. Trotz alledem war es nicht klar, ob die chemisch veränderten, metallmarkierten Antikörper noch hochspezifisch an Tumormarker binden können. Denn es ist von entscheidender Bedeutung, dass nur jene Metalle gezählt werden, die spezifisch an ihren Rezeptor im Gewebe

gebunden haben. Dazu müssen nach der chemischen Kopplung von Antikörper und Metall jene Lanthanoidkomplexe entfernt werden, die keine Reaktion eingegangen sind. Zum anderen muss sichergestellt werden, dass während der Antikörperinkubation auf dem Gewebe Bedingungen herrschen, die eine spezifische Bindung und ein sensitives Messsignal ermöglichen. So bewirken hohe Konzentrationen an Antikörpern bzw. lange Inkubationszeiten zwar ein sensitives Messsignal, welches jedoch zunehmend unspezifischer Natur sein kann. Um dies auszuschließen und die optimalen Bedingungen zu überwachen, ist das Mitführen einer Negativkontrolle für alle Experimente unbedingt erforderlich. Eine Negativkontrolle besteht aus einer anderen Gewebeart, die keine der untersuchten Tumormarker aufweist. Sind diese Voraussetzungen erfüllt, eröffnet die Markierung mit Metallen den Weg zu einer Diagnostik, in der die Beurteilung des Gewebes nicht mehr auf Farbstärken basiert, sondern durch die Anwendung einer neuen Technik in messbare Zahlen umgewandelt werden kann. Die neue Herangehensweise eröffnet zusätzlich Möglichkeiten für eine schnellere Diagnostik, da unterschiedliche Parameter simultan abgefragt werden können.

Metallhaltige Krebsdiagnostik

Die Markierung mit Metallen erlaubt die simultane Bestimmung verschiedener Tumormarker im Gewebe. Zusätzlich kann ihre jeweilige Verteilung auf einem einzigen Dünnschnitt untersucht werden. Nach Inkubation der Antikörper wird das Gewebe unter Anwendung eines Lasers verdampft, und zwar Linie für Linie. Das verdampfte Gewebe wird im Plasma in seine elementaren Bestandteile zerlegt, welche im Massenspektrometer detektiert werden. Dabei wird jedes Lanthanidion, das im Massenspektrometer ankommt, gezählt. Die Linien durch das Gewebe ergeben jeweils eigene Spektren, welche nach der Messung zu einem 2-D-Bild gerechnet werden. Der verwendete Durchmesser des Laserstrahls und die Scangeschwindigkeit des Lasers bestimmen in diesem Fall die resultierende Bildauflösung in y- und in x-Richtung.

Während der konventionellen immunhistochemischen Methode wird Brustkrebsgewebe häufig auf die Tumormarker Her2/neu, Cytokeratin 7 und Mucin 1 getestet. Mit dem neuen Multiplexansatz konnten diese drei Tumormarker nun zum ersten Mal simultan in einer einzigen Messung untersucht werden (siehe Abbildung 2), was eine hohe Zeitersparnis darstellte.⁴ Darüber hinaus wurde eine Vergleichbarkeit der Expressionsunterschiede untereinander über einen großen dynamischen Bereich ermöglicht. Die bisher verwendeten organischen Farbstoffe gehen auf dem Gewebe recht schnell in Sättigung, wohingegen das Signal der Lanthanoide im Massenspektrum über neun Größenordnungen linear ansteigen kann. So wies die LA-ICP-MS-Messung für Mucin 1 ein um zwei Größenordnungen höheres Signal auf als für die Tumormarker Her2/neu und Cytokeratin 7, bei gleicher eingesetzter Antikörperkonzentration. Diese

Expressionsunterschiede waren auf dem parallelen, konventionell immunhistochemisch angefärbten Gewebeschnitt durch die Farbsättigung im Gewebe nicht ersichtlich. Durch die gewebesparende Analytik steht außerdem mehr Material für weitere diagnostische Untersuchungen, wie z. B. FISH (Fluorescence In Situ Hybridization), zur Verfügung.

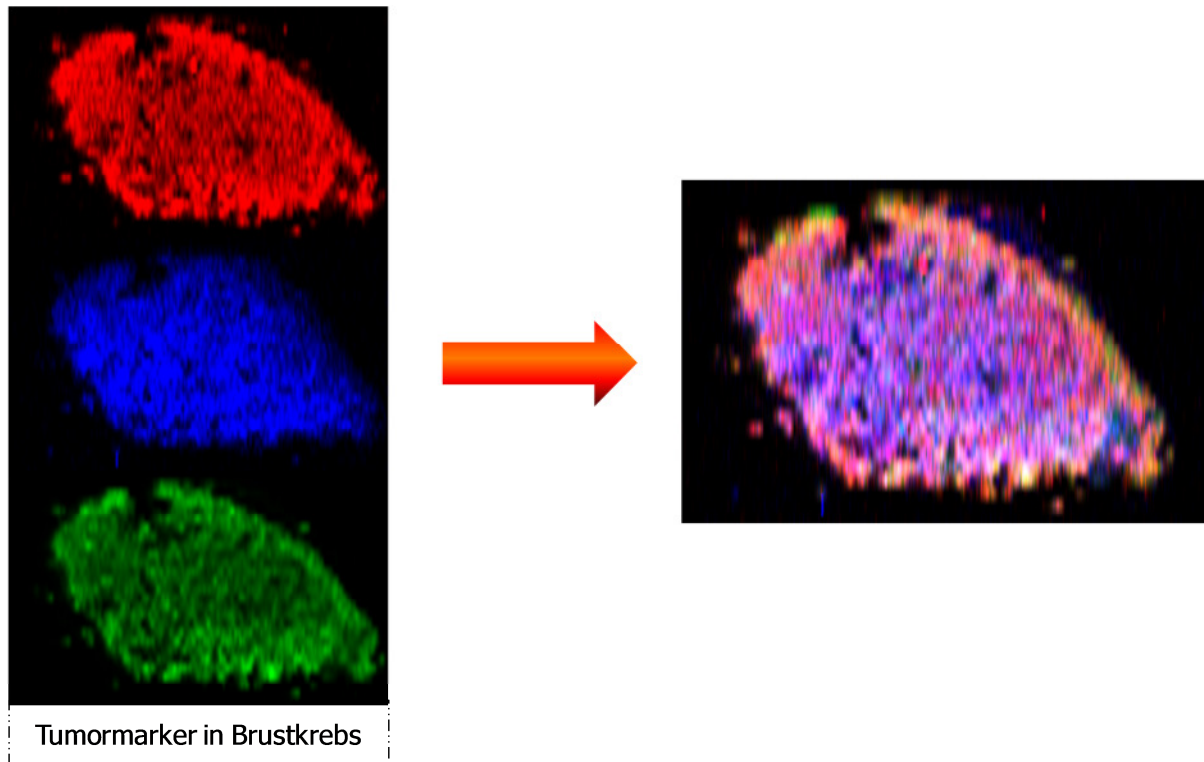


Abbildung 2: Mehrere Tumormarker können in einem Brustkrebsgewebe mit der neuen metallhaltigen Krebsdiagnostik simultan bestimmt werden. Ein vergleichbares Experiment ist mit der konventionellen Immunhistochemie nicht durchzuführen, und die Expressionsunterschiede der Tumormarker zueinander bleiben im Verborgenen. Zusätzlich führt die Simultanbestimmung zu einer schnelleren Diagnostik.

Die Bildauflösung der untersuchten Gewebeschnitte liegt momentan etwa einen Faktor 100 unter dem der Lichtmikroskopie. Die Ursache hierfür liegt hauptsächlich in der geringen Kopplungsdichte von nur zwei Lanthanoidionen pro Antikörper, welche mittels Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometrie bestätigt wurde. Durch die Verwendung von höheren Kopplungsdichten am Antikörper liegt eine vergleichbare Leistungsfähigkeit zur Lichtmikroskopie jedoch in greifbarer Nähe.

Dies zeigte sich in einem weiteren Experiment, in dem die Morphologie des Gewebes mittels LA-ICP-MS bis hinunter zur Zellkernauflösung untersucht werden konnte. Dieser Informationsgewinn ist für den Pathologen von entscheidender Bedeutung, denn vergrößerte Zellkerne können ein zusätzliches Indiz für einen Tumor darstellen. Die nötige „Anfärbung“ der Zellkerne für die ICP-MS erfolgte durch Iodierung des Gewebes. Iod ist ein schwaches Elektrophil und wird folglich nur mit stark aktivierten Aromaten reagieren. Es gibt jedoch zwei Aminosäuren,

die diesen Anforderungen entsprechen: Tyrosin und Histidin. Auf diese Weise können Proteine mit Iod markiert werden. Der Zellkern weist besonders viele Proteine in hoher Dichte auf, da sie zur Verpackung der DNA eingesetzt werden. Aus diesem Grund nehmen die Zellkerne besonders viel Iod auf. Wird nun die Iodierung kurz gehalten, und zwar geringer als 60 Sekunden, kann eine Differenzierung der Zellstrukturen erreicht werden. So gelang es erstmals, eine Einzelzellkernauflösung mittels LA-ICP-MS zu realisieren.⁵ Zunächst konnte dieser Effekt an Fibroblastenzellen beobachtet werden, welche mit ca. 50 µm einen sehr großen Zellkern besitzen. In einer Leberbiopsie, deren Zellkerne üblicherweise nur ca. 2 µm groß sind, konnten mit dieser Technik ca. 15 µm große, stark vergrößerte Zellkerne nachgewiesen werden, die auf eine Chromosomenaberration hindeuten.

Neben der morphologischen Untersuchung des Gewebes und der Erstellung eines Tumorprofils anhand der unterschiedlichen Marker ist es für eine Vergleichbarkeit der gestellten immunhistochemischen Diagnosen zwischen verschiedenen Kliniken und Laboratorien von hoher Bedeutung, die Expression der Tumormarker quantitativ zu erfassen. Durch das Schneiden des Gewebes mit dem Mikrotom und das Aufbringen auf Objektträger entstehen jedoch häufig Unregelmäßigkeiten. Somit kann dickeres Gewebe die Überexpression eines Tumormarkers vortäuschen. Durch Normierung auf einen internen Standard können solche Effekte ausgeglichen werden. Die Anwendung eines solchen Standards ist unerlässlich für eine Quantifizierung der Tumormarker, für die es bisher jedoch keine guten Lösungsansätze gab. So war in der Literatur die Verwendung von ¹³C als internem Standard bisher die gängige Methode. Das Verhalten dieses leichten Isotops spiegelt aber das Verhalten der deutlich schwereren Analytionen schlecht wider und ist daher als interner Standard ungeeignet.

Die Markierung der Zellen mit Iod eröffnete hier neue Möglichkeiten: Da die Anzahl der Zellen im Gewebe proportional zu dessen Dicke ist, konnte Iod als neuer interner Standard eingesetzt werden. Da Iod außerdem ein deutlich schwereres Element ist als Kohlenstoff, ähnelt sein Verhalten auf dem Weg von der Probenoberfläche bis zum Massenspektrometer sehr viel mehr dem der Analytionen. Durch die Normierung auf das Iodsignal kann nun der Beitrag dickerer Gewebeschichten auf das erhaltene Messsignal herausgerechnet werden. Es können jetzt erstmalig unterschiedlich starke Gewebestücke untersucht werden, ohne eine erhöhte Expression des Tumormarkers in dichterem Gewebe vorzutäuschen. Eine vergleichbare Korrektur existiert für die konventionelle lichtmikroskopische Untersuchung des Tumorgewebes nicht. Die Anwendung der LA-ICP-MS für die immunhistochemische Krebsdiagnostik eröffnet somit Möglichkeiten der direkten Quantifizierung von unterschiedlichen Markern im Gewebe. Dies ist von hoher Bedeutung für eine zuverlässige Charakterisierung des Tumors, in die nicht nur eine bloße

Ja-Nein-Entscheidung mit einbezogen werden soll, sondern bei der es auch darum geht, unterschiedliche Marker zueinander in Beziehung zu setzen und eine genaue Abschätzung ihrer Häufigkeit im Gewebe zu treffen. Je mehr Information der behandelnde Arzt über die Erkrankung seines Patienten erhält, desto effektiver und individueller werden die eingeleiteten Maßnahmen sein. Darüber hinaus liefert ein genaueres Profil des Tumors auch den Forschern mehr Ansatzpunkte für zukünftige Therapien.

Die Therapie

Durch die morphologische Untersuchung des Gewebes und die Identifizierung verschiedener Tumormarker kann schließlich ein Profil des Tumors erstellt werden. Es liefert zum einen Hinweise auf die Prognose der Krankheit, zum anderen werden auf der Basis der gewonnenen Erkenntnisse Therapieentscheidungen gefällt. In mehr als der Hälfte der Behandlungen von festen Tumoren wird letztendlich Cisplatin eingesetzt.⁶ Die Nebenwirkungen dieses Zytostatikums sind zum Teil erheblich und manifestieren sich unter anderem in Übelkeit und Erbrechen, Hörschäden, Taubheitsgefühlen und Entzündungen der Mundschleimhaut. Dosislimitierend ist jedoch in vielen Fällen die auftretende Nephrotoxizität, die schwere und zum Teil irreversible Nierenfunktionsstörungen hervorruft. Um Licht in die Mechanismen dieses Phänomens zu bringen, wurden Rattennieren untersucht, welche von Cisplatin-behandelten Ratten stammten. Die Nieren konnten mittels LA-ICP-MS analysiert werden.⁷

Zunächst einmal wurden jedoch die Nieren unbehandelter Ratten untersucht. Sie wiesen im Bereich der Nierenrinde eine ausgeprägte Kupferverteilung auf, die sich durch die Anwesenheit von membranständigen Kupfertransportern in den Tubuluszellen der Nierenrinde erklären lässt. Wurde die Ratte jedoch mit einer physiologischen Menge (5 mg kg^{-1}) an Cisplatin behandelt, nahm die Kupferverteilung in der Nierenrinde ab. Die gleichzeitige Anreicherung mit Platin lässt vermuten, dass Platin ebenfalls über die Kupfertransporter in die Zellen gelangt und infolgedessen das Kupfer dort verdrängt. Der Einsatz der LA-ICP-MS als metallisches Mikroskop, in höherer lateraler Auflösung, lieferte eine vergrößerte Aufnahme der Nierenrinde und machte deutlich, dass sich Platin hauptsächlich in den Tubuluszellen anreichert. Die Nierenkörperchen hingegen sind der Ort, an dem das Blut zum Primärharn filtriert wird, und weisen aufgrund der ständigen Flüssigkeitszirkulation keine erhöhte Akkumulation von Platin auf. Die Anfärbung paralleler Nierenschnitte mit HE verdeutlichte noch einmal aus morphologischer Sicht die schweren Schäden im Bereich der Nierenrinde. Es ist folglich sehr erstrebenswert, die Niere – und hier speziell die Nierenrinde – unter Cisplatingabe zu schützen, da hier die gravierendsten Nebenwirkungen entstehen.

Zu diesem Zweck wurde die LA-ICP-MS in ihrer Funktion als metallisches Mikroskop in einer Studie eingesetzt, welche das Ziel hatte, die Wirksamkeit eines Nephroprotektors zu untersuchen. Für diese Studie wurde den Ratten zusätzlich zur Cisplatin-Behandlung ein Nephroprotektor, das Cilastatin, verabreicht. Die Untersuchung der zugehörigen Rattennieren-Dünnschnitte ergab eine deutlich geringere Platinablagerung in der Nierenrinde. Zusätzlich wiesen parallele HE-angefärbte Schnitte keine Nierenschäden auf. Eine Hemmung der Platinaufnahme in die Nierenrinde und der damit verbundenen Funktionsstörungen konnte mithilfe der LA-ICP-MS direkt im Gewebe nachgewiesen werden und gibt Hoffnung auf eine verbesserte Lebensqualität von Krebspatienten, die mit Cisplatin behandelt werden müssen.

Ausblick und Zusammenfassung

Es ist in der vorliegenden Arbeit gelungen, ein völlig neues Verfahren der immunhistochemischen Diagnostik zu entwickeln, das die simultane Charakterisierung von mehreren Tumormarkern auf einem einzigen Gewebeschnitt ermöglicht. Ein komplexes Tumorprofil kann auf diese Weise in einer einzigen Untersuchung gewonnen werden. Je zügiger Ärzte diese Informationen erhalten, desto schneller kann ein Patient die Therapie erhalten, die er benötigt. Und je mehr Informationen wir über eine Krebsart gewinnen, desto gezielter können Forscher neue Therapien entwickeln. Durch die genaueren Testergebnisse kann mancher Patient möglicherweise auf eine Chemotherapie verzichten, welche in der Regel schwere Nebenwirkungen verursacht. Durch den Einsatz zusätzlicher Metallmarkierungen lässt sich der entwickelte Multiplexansatz noch erweitern und weitere Zeit bei der Krebsdiagnostik einsparen. Die hohe Leistungsfähigkeit der LA-ICP-MS für die morphologische Beurteilung des Gewebes konnte anhand der räumlichen Auflösung bis auf Zellkernebene bewiesen werden. Schließlich wurden in einer Studie zur Toxizität von Cisplatin Hinweise auf den Mechanismus der auftretenden Nephrotoxizität gewonnen. Diese Erkenntnisse können eingesetzt werden, um die schweren Nebenwirkungen der Cisplatin-Therapie zu minimieren. Zusammen mit einer optimierten immunhistochemischen Diagnostik besteht nun das Potenzial, die Lebensqualität vieler Patienten deutlich zu verbessern.

Literatur

1. Rüdiger, T.; Höfler, H.; Kreipe, H. H.; Nizze, H.; Pfeifer, U.; Stein, H.; Dallenbach, F. E.; Fischer, H. P.; Mengel, M.; von Wasielewski, R.; Müller-Hermelink, H. K., Interlaboratory trial 2000 "Immunohistochemistry" of the German Society for Pathology and the Professional Association of German Pathologists. *Pathologe* **2003**, 24 (1), 70-78.
2. Sauter, G.; Simon, R.; Hillan, K., Tissue microarrays in drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery* **2003**, 2 (12), 962-972.
3. Prange, A.; Proefrock, D., Chemical labels and natural element tags for the quantitative analysis of bio-molecules. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **2008**, 23 (4), 432-459.
4. Giesen, C.; Mairinger, T.; Khoury, L.; Waentig, L.; Jakubowski, N.; Panne, U., Multiplexed Immunohistochemical Detection of Tumor Markers in Breast Cancer Tissue Using Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* **2011**, 83 (21), 8177-8183.
5. Giesen, C.; Waentig, L.; Mairinger, T.; Drescher, D.; Kneipp, J.; Roos, P. H.; Panne, U.; Jakubowski, N., Iodine as an elemental marker for imaging of single cells and tissue sections by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **2011**, 26 (11), 2160-2165.
6. Galanski, M.; Arion, V. B.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K., Recent developments in the field of tumor-inhibiting metal complexes. *Current Pharmaceutical Design* **2003**, 9 (25), 2078-2089.
7. Moreno-Gordaliza, E.; Giesen, C.; Lazaro, A.; Esteban-Fernandez, D.; Humanes, B.; Canas, B.; Panne, U.; Tejedor, A.; Jakubowski, N.; Gomez-Gomez, M. M., Elemental Bioimaging in Kidney by LA-ICP-MS As a Tool to Study Nephrotoxicity and Renal Protective Strategies in Cisplatin Therapies. *Analytical Chemistry* **2011**, 83 (20), 7933-7940.

Weitere Quellen

Deutsche Krebshilfe (www.krebshilfe.de)