

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	VIII
Abbildungsverzeichnis.....	XI
Tabellenverzeichnis .....	XIII
1    Einleitung.....	1
2    Literatur .....	3
2.1    Kolorektale Tumoren.....	3
2.1.1    Epidemiologie.....	3
2.1.2    Ursachen .....	4
2.1.3    Tumorstadium und Metastasierung.....	5
2.1.4    Diagnostik.....	6
2.1.4.1    Fäkaler Occulter Bluttest (FOBT) .....	7
2.1.4.2    Sigmoidoskopie .....	7
2.1.4.3    Koloskopie.....	8
2.1.5    Therapie .....	9
2.2    Präklinische Tumormodelle.....	10
2.2.1    Mutationsmodelle .....	10
2.2.2    Transplantationsmodelle.....	11
2.2.3    Diagnostische Bildgebung.....	13
2.2.4    Biolumineszenz-Bildgebung.....	14
2.2.5    Fluoreszenz-Bildgebung .....	15
2.2.6    Integrine als Zielstrukturen für die molekulare Bildgebung.....	17
3    Arbeitshypothese und Strategie des Dissertationsprojektes .....	18
4    Material und Methoden.....	19
4.1    Material.....	19
4.1.1    Biologisches Material .....	19
4.1.1.1    Eukaryotische Zellen .....	19
4.1.2    Zellkulturmedien und deren Zusätze .....	20
4.1.3    Antikörper.....	20
4.1.4    Kits.....	21

---

4.1.5	Puffer und Lösungen.....	21
4.1.6	Chemikalien/Reagenzien .....	21
4.1.7	NIR-Kontrastmittel .....	22
4.1.8	Sonstige Materialien .....	22
4.1.9	Bildgebende Untersuchungsgeräte .....	24
4.1.10	Software der Bildgebungsgeräte .....	25
4.1.11	Geräte für die Zellkultur .....	25
4.2	Methoden .....	26
4.2.1	Zellbiologische Methoden .....	26
4.2.1.1	Kultivierung und Passagieren .....	26
4.2.1.2	Einfrieren und Auftauen .....	26
4.2.1.3	Zellzahlbestimmung.....	26
4.2.1.4	Messung der Luciferaseaktivität <i>in vitro</i> .....	27
4.2.2	Tierexperimentelle Methoden.....	28
4.2.2.1	Versuchstiere und Haltung.....	28
4.2.2.2	<i>Subcutane</i> Implantation .....	28
4.2.2.3	Vorbereitung zur orthotopen Implantation .....	29
4.2.2.4	Implantation der Tumorzellen ins Kolon.....	29
4.2.2.5	Postoperatives klinisches Management der Versuchstiere .....	30
4.2.3	Bildgebende Verfahren .....	31
4.2.3.1	Endoskopische Untersuchung der Tiere .....	31
4.2.3.2	Versuchsablauf.....	32
4.2.3.3	Biolumineszenz-Bildgebung.....	33
4.2.3.4	Erstellung einer <i>in vivo</i> -Kinetik .....	34
4.2.3.5	Nah-Infrarotfluoreszenz-Bildgebung.....	34
4.2.3.6	Vorversuch zur Autofluoreszenz .....	34
4.2.3.7	Vorversuch: NIR-Kontrastmittel für das NIR-Faserendoskop .....	35
4.2.3.8	Integrin-Bildgebung mit dem NIR-Faserendoskop .....	36
4.2.3.9	<i>Ex vivo</i> Einsatz des NIR-Faserendoskopes .....	36
4.2.4	<i>Ex vivo</i> Aufarbeitung .....	37
4.2.4.1	Sektion .....	37

---

4.2.5	HE-Färbung und immunhistochemische Methoden .....	39
4.2.5.1	Herstellung von Gefrierschnitten.....	39
4.2.5.2	Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung).....	40
4.2.5.3	Immunhistochemische Färbungen .....	40
5	Ergebnisse .....	42
5.1	Charakterisierung der kolorektalen Zelllinien .....	42
5.1.1	Ermittlung der Photonenausbeute .....	42
5.1.2	<i>In vitro</i> -Luciferasestabilität.....	43
5.1.3	<i>In vivo</i> -Luciferasestabilität .....	45
5.2	Etablierung der orthotopen Implantation .....	46
5.2.1	Orthotope Tumorimplantation .....	46
5.2.2	Gruppenaufteilung .....	47
5.2.2.1	Klinische Symptome für das Tumorwachstum.....	49
5.2.2.2	Gewichtsentwicklung.....	51
5.2.3	Monitoring des Tumorwachstums .....	51
5.2.3.1	Koloskopie und Beurteilung der Tumorgroße .....	53
5.2.3.2	Biolumineszenz Bildgebung (BLI).....	54
5.2.4	Anwachsrate in Abhängigkeit von der Operationsmethode .....	57
5.2.4.1	Orthotopes Tumorwachstum.....	58
5.2.4.2	<i>Ex vivo</i> -Charakterisierung.....	64
5.2.4.3	Metastasierung.....	65
5.2.4.4	Immunhistochemischer Nachweis humaner Tumorzellen.....	67
5.3	Nahinfrarot Experimente .....	70
5.3.1	Analyse der Autofluoreszenz verschiedener Futtermittel.....	70
5.3.2	NIR-Bildgebung der orthotopen kolorektalen Tumoren .....	73
5.3.2.1	Auswahl eines geeigneten Kontrastmittels.....	73
5.3.2.2	Kolokalisation von Fluoreszenz und Biolumineszenz.....	75
5.3.2.3	Etablierung der NIR-Bildgebung mit dem Faserendoskop.....	76
5.3.2.4	Quantitative Analyse der NIR-Fluoreszenzsignale.....	78
5.3.2.5	NIR-Fluoreszenzbildgebung der Kryoschnitte .....	85
5.3.2.6	Quantifizierung des Fluoreszenzsignales der Kryoschnitte.....	86

# Inhaltsverzeichnis

---

6	Diskussion.....	89
6.1	Das orthotope kolorektale Tumormodell .....	89
6.2	Monitoring des Tumorwachstums .....	92
6.2.1	Klinische Überwachung.....	93
6.2.2	Bildgebende Verfahren .....	94
6.2.2.1	Endoskopie.....	95
6.2.2.2	Biolumineszenz.....	96
6.2.2.3	Integrine als Zielstrukturen in der Bildgebung .....	98
6.3	Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Klinik .....	102
7	Zusammenfassung .....	105
8	Summary .....	107
9	Literaturverzeichnis .....	109
10	Anhang.....	132
11	Veröffentlichungen .....	136
12	Danksagung .....	138
13	Selbstständigkeitserklärung .....	139