

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 Tumorwachstum 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

Inhaltsverzeichnis

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 Tumogröße	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 Fluoreszenzsignals 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