

Inhaltsverzeichnis

Erklärung.....	3
Inhaltsverzeichnis.....	4
1 Einleitung.....	6
2 Literaturübersicht.....	8
2.1 Gliatumoren	8
2.1.1 Einteilung	8
2.1.2 Genetische Veränderungen	9
2.1.3 Prognostische Faktoren	10
2.1.4 Therapeutische Optionen.....	10
2.2 Temozolomid (TMZ).....	11
2.2.1 Pharmakologie und -kinetik	11
2.2.2 Wirkmechanismus	12
2.2.3 Dosierschemata	13
2.3 Resistenz- und Reparaturmechanismen	13
2.4 Angiogenese.....	14
2.4.1 Vascular Endothelia Growth Factor (VEGF).....	15
2.4.2 Cyclooxygenase 2	15
2.5 Humane endotheliale Nabelschnurvenen-Zellen	16
2.6 Prinzip der anti-angiogenen Therapie	16
2.7 Prinzip der kontinuierlichen niedrigdosierten oder metronomen Therapie	17
2.8 Migration als Problem der Gliomtherapie	18
3 Ziel der Arbeit	19
4 Material und Methoden	20
4.1 Versuchstiere.....	20
4.2 Temozolomid (TMZ)	20
4.2.1 Herstellung und Dosierung einer TMZ-Injektionslösung	20
4.3 Nabelschnur-Endothelzellen (HUVEC).....	21
4.4 Tumorzellen	21
4.4.1 Zellkultur	22
4.4.2 Zytotoxizitäts-Untersuchungen	22
4.4.3 Herstellung von Sphäroiden	23
4.4.4 Migrationsuntersuchungen	23
4.5 Tumormodelle.....	23
4.5.1 Subkutanes Tumormodell zur Ermittlung des Tumorwachstums	23
4.5.2 Rückenhautkammermodell (RHK) zur Ermittlung der Tumorvaskularisation....	24
4.6 Intravitalvideomikroskopie	27
4.6.1 Multipluoreszenzvideomikroskopie	27
4.6.2 Auswertungsparameter	28
4.7 Immunhistologie	31
4.8 RNA-Analyse.....	32
4.8.1 Gewebeaufbereitung	32
4.8.2 Reverse Transkriptase	32
4.8.3 Polymerase-Kettenreaktion	33
4.8.4 Auf trennen der PCR-Produkte mittels Gelelektrophorese	34
4.9 Proteindetektion mittels Western Blot	34
4.9.1 Probenaufbereitung	34
4.9.2 Bestimmung der Proteinkonzentration	34
4.9.3 SDS-PAGE Gelelektrophorese	34
4.9.4 Semi-Dry-Blot.....	35

4.10 Tabelle verwendeter Chemikalien	36
4.11 Protokolle.....	37
4.11.1 Immunhistochemische Färbungen und H.&E. Färbung	37
4.11.2 Western Blot	37
4.11.3 Puffer und Lösungen.....	39
5 Ergebnisse.....	40
5.1 Wachstumsverhalten und Chemoresistenz gegenüber TMZ in vitro.....	40
5.1.1 SF188wt- und SF188tr-Zelllinien	40
5.2 Zytotoxizitätsassay in der Zellkultur (MTT-Assay)	41
5.2.1 SF188wt und SF188tr Zellen	41
5.2.2 HUVEC Zellen	42
5.3 Vergleich der Migration von Sphäroiden in vitro	43
5.4 Charakterisierung der Tumorzellen in vivo	45
5.4.1 Untersuchungen im subkutanen Tumormodell	45
5.4.2 Intravitalmikroskopie der Rückenhautkammern.....	45
5.4.3 Immunhistologische Untersuchungen der Zelllinien auf Gefäßdichte in der RHK	47
5.4.4 Expression der angiogenen Faktoren VEGF und Cox-2	48
5.5 Vergleich der Therapiemodelle unter TMZ-Therapie	49
5.5.1 Vergleich der TMZ-Therapiedosen im subkutanen Tumormodell	49
5.5.2 Wirkungsvergleich der TMZ-Therapiedosen auf die Tumorangiogenese in der Rückenhautkammer	50
5.6 Zusammenfassung der Ergebnisse	51
6 Diskussion	52
6.1 Gliome.....	52
6.1.1 Gliome und deren vaskuläre Besonderheiten	52
6.1.2 Gliome und deren infiltrative Eigenschaften	53
6.1.3 Rolle der Cyclooxygenase-2 bei der Neovaskularisation	54
6.1.4 Rolle der Migration	56
6.2 Temozolomid in der Gliomtherapie	56
6.3 TMZ in der low-dose bzw. metronomischen Therapie	57
6.4 Tumormodelle.....	59
6.4.1 Subkutanes Tumormodell	59
6.4.2 Tumormodell der RHK	60
7 Schlussfolgerung	61
8 Zusammenfassung	62
8.1 Summary	63
9 Abkürzungen	65
10 Referenzen	67
11 Danksagung	71