

Matthias Borho

Dr. med. dent.

Die in vitro - Histokultur als Modellsystem beim kolorektalen Karzinom zur Untersuchung prognostischer Marker und therapeutischer Ansätze

Geboren am 08.10.1967 in Karlsruhe

Allgemeine Hochschulreife am 19.05.1988 in Ettlingen

Studiengang der Fachrichtung Zahnmedizin vom WS 1990/91 bis WS 1997/98

Vorphysikum am 23.03.1993 an der Universitätsklinik Heidelberg

Physikum am 15.03.1994 an der Universitätsklinik Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Staatsexamen am 18.12.1997 in Heidelberg

Promotionsfach: Labormedizin

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. M. Volkmann

In der vorliegenden Arbeit wurde ein in vitro - Chemosensitivitäts - Assay auf Grundlage einer „Histokultur“ nach dem Modell von Hoffmann an primären kolorektalen Karzinomen untersucht. Zielsetzung war, vorklinische Voraussagen über die Eignung bestimmter Substanzen für eine Chemotherapie des kolorektalen Karzinoms zu machen sowie die Histokultur als Modellsystem für die Evaluation neuer therapeutischer Ansätze zu bewerten. Es wurden 13 unterschiedliche Tumorgewebeproben von kolorektalen Karzinomen untersucht, darunter 4 Colonresektate, 3 Sigmaresektate, 1 Rektum - Sigma - Resektat und 5 Rektumresektate.

Nach einer Kultur - Vorlaufzeit von 6 Tagen im Kulturmedium auf einem Gelastyp - Gelatineschwamm wurden die Gewebeproben einer Behandlung mit 5-Fluorouracil in den Konzentrationen 4, 20 und 50 µg/ml unterzogen. Die Behandlungsdauer betrug 14 Tage, wobei für unbehandeltes Gewebe ein Zeitraum von bis zu 38 Tagen untersucht wurde.

Als nicht - invasive Methode wurde die Glucosemessung eingesetzt. Ferner wurde das MTT-Assay angewandt und Inhibitionsraten ermittelt. Bestimmung der Tumormarker CEA, p53 und MIB-1 sollten Aufschluss geben über die Möglichkeit, prädiktive Marker zur Beurteilung der Wirksamkeit von Chemotherapeutika einzusetzen. Als Pilotprojekt wurde der Versuch

unternommen, parvovirale DNA in Tumorgewebe einzuschleusen. Dies gelang, wie über RT-PCR an dem viralen Gen für das NS1 gezeigt werden konnte.

Das Histokultursystem blieb über den gesamten Kulturzeitraum stabil. Die Nachweisverfahren der Tumormarker korrelierten mit dem Glucoseverbrauchstest und dem MTT-Assay. Der Glucoseverbrauch blieb in den Kontrollkulturen nahezu konstant, während er in den behandelten Proben dosisabhängig abnahm. Die CEA-Sekretion verminderte sich mit der Behandlung auf im Mittel 50% des Anfangswerts.

Der MTT - Endpunkt zeigte eine Dosisabhängigkeit der 5-FU-Therapie: bei 20 µg/ml war die Inhibitionswirkung bereits deutlich. Allerdings konnte keine direkte Korrelation der möglichen prognostischen Marker CEA, MIB-1 oder p53 mit der Chemosensitivität der einzelnen Präparate hergestellt werden.

Für das Parvovirus H-1 konnte die Infizierbarkeit in der kolorektalen Histokultur in einem Pilotexperiment nachgewiesen werden, ohne allerdings einen direkt toxischen Effekt im untersuchten Gewebe aufzuweisen.

Nach diesen Ergebnissen erweist sich das beschriebene Histokultursystem als reproduzierbares Modellsystem für die präklinische Bewertung von Chemotherapeutika und neuen therapeutischen Ansätzen beim kolorektalem Karzinom.