

Aus der Klinik für Allgemein-, Visceral-, Gefäß- und Thoraxchirurgie  
Medizinische Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin  
Campus Mitte  
Direktor: Professor Dr. med. J.M. Müller

**Einfluß des Pneumoperitoneums in der Minimal-Invasiven-Chirurgie auf  
Zelloberflächenmolekülen von Kolonkarzinomzellen  
Eine in-vitro und in-vivo Studie mit Molekularbiologischen und  
Rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen**

**Habilitationsschrift**

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach

**Chirurgie**

vorgelegt der  
Medizinischen Fakultät der Charité  
Universitätsmedizin Berlin

von  
Herrn Dr. med. Jürgen Ordemann  
geboren am 21. Mai 1965 in Bonn, Deutschland

Dekan: Prof. Dr. med. Martin Paul

eingereicht am: August 2004  
öffentl. wiss. Vortrag: 17. Oktober 2005

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. H. Lippert
2. Prof. Dr. med. K.W. Jauch

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1.</b>	<b>Einleitung und Problemstellung</b>	<b>5</b>
1.1.	Stand der Forschung - Laparoskopie und Tumorwachstum	5
1.1.1	Chirurgische Manipulation und Tumorwachstum	8
1.1.2	Einfluß von Insufflationsgas und intraperitonealer Druck auf das Tumorwachstum	8
1.1.3	Lokale Wundbedingungen und Tumorwachstum	9
1.1.4	Laparoskopie und Peritonealzellen	9
1.1.5	Laparoskopie und Peritonealmakrophagen	10
1.1.6	Laparoskopie und Adhäsionsmoleküle	11
1.1.6.1	E-Cadherin	12
1.1.6.2	CD44v6	12
1.1.6.3	CD54 (ICAM-1)	13
1.1.6.4	CD29 ( $\beta$ 1-Integrin)	14
<b>2.</b>	<b>Fragestellung und Ziel der Arbeit</b>	<b>16</b>
<b>3.</b>	<b>Methodik</b>	<b>19</b>
<b>3.1</b>	<b>Rasterelektronenmikroskopie</b>	<b>19</b>
3.1.1	Tierart und Tumorzelllinie	19
3.1.2	Einteilung der Gruppen	20
3.1.3	Tumorzellinjektion und Pneumoperitoneum	21
3.1.4	Biopsieentnahme	21
3.1.5	Rasterelektronenmikroskopie	22
3.1.6	Präparation von Proben und Tumorzellen	23
3.1.7	Befundung und Diagnosestellung	24
3.1.8	Statistik	26
<b>3.2</b>	<b>Adhäsionsmolekülexpression auf HT-29-Zellen</b>	<b>27</b>
3.2.1	Kolonkarzinomzellen (HT-29)	27
3.2.2	Züchtung von Kolonkarzinomzellen HT-29	27

3.2.3	Versuchsgeräte und Instrumente	28
3.2.3.1	Mini-Inkubator „TC-2020“	29
3.2.4	Durchflußzytometrie	30
3.2.5	Verbrauchsmaterialien, Puffer und monoklonale Antikörper	30
3.2.6	Analyse der Adhäsionsmolekülexpression auf HT-29-Zellen	31
3.2.7	Verwendete Computersoftware	32
3.2.8	Messzeitpunkt und Verlauf	32
3.2.9	Statistik	33
<b>3.3</b>	<b>Intrazelluläre Kalzium-Messung</b>	<b>34</b>
3.3.1	Prinzip der Kalziummessung mit FURA2-AM	34
3.3.2	HT-29 Zellen und Beladung mit FURA2-AM	34
3.3.3	Meßsystem (Inoquant <sup>®</sup> und Digitale Bildanalyse)	35
3.3.4	Zellinkubation und Messzeitpunkte	36
3.3.5	Statistik	36
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>37</b>
<b>4.1</b>	<b>Rasterelektronenmikroskopie</b>	<b>37</b>
4.1.1	Dokumentation der Einzelbefunde	37
4.1.2	Ergebnisse der Kontrollgruppe	43
4.1.3	Ergebnisse der Kohlendioxidgruppe	44
4.1.4	Ergebnisse der Heliumgruppe	46
4.1.5	Statistische Auswertung	48
<b>4.2</b>	<b>Adhäsionsmoleküle auf HT-29-Zellen</b>	<b>49</b>
4.2.1	Adhäsionsmolekülexpression auf unbehandelten HT-29 Zellen	54
4.2.2	Einfluß von Gas, Druck und pH-Wert auf die E-Cadherin Expression	55
4.2.3	Einfluß von Gas, Druck und pH-Wert auf die CD44v6 Expression	61
4.2.4	Einfluß von Gas, Druck und pH-Wert auf die CD54 Expression	67
4.2.5	Einfluß von Gas, Druck und pH-Wert auf die CD29 Expression	73

<b>4.3</b>	<b>Intrazelluläre Kalziumkonzentrationen in HT-29-Zellen</b>	<b>79</b>
4.3.1	Aufnahme von FURA2-AM durch HT-29-Zellen	79
4.3.2	[Ca <sup>2+</sup> ] <sub>i</sub> nach Kohlendioxidinkubation bei 10 und 20 mmHg	80
4.3.3	[Ca <sup>2+</sup> ] <sub>i</sub> nach Heliuminkubation bei 10 und 20 mmHg	82
<b>5.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>84</b>
5.1	Einfluß des Pneumoperitoneums auf die rasterelektronen- mikroskopische Struktur des Peritoneums	88
5.2	Einfluß von Gas, Druck und pH-Wert auf die Expression von Adhäsionsmolekülen auf Kolonkarzinomzellen (HT-29)	93
5.2.1	E-Cadherin	95
5.2.2	CD44v6	98
5.2.3	CD54 (ICAM-1)	100
5.2.4	CD29 (β1-Integrin)	102
5.3	Einfluß von Gas und Druck auf den intrazellulären Kalziumgehalt von Kolonkarzinomzellen (HT-29)	108
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>113</b>
<b>7.</b>	<b>Literatur</b>	<b>116</b>
<b>8.</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>130</b>
<b>9.</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>131</b>
<b>10.</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>133</b>