

Aus dem Deutschen Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H.-G. Joost

und der

Chirurgischen Klinik und Poliklinik I

Abteilung für Allgemein-, Gefäß- und Thoraxchirurgie des

„Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin“ der

Freien- und Humboldt-Universität zu Berlin

Direktor: Prof. Dr. med. H.-J. Buhr

**Immunhistochemische Charakterisierung pathologischer Veränderungen
bei der sporadischen und hereditären kolorektalen Karzinogenese und
chronisch entzündlichen Darmerkrankungen;
Präventionsstrategien mit resistenter Stärke Typ III
- experimentelle Studien am TNBS- und DMH-Modell -**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Grades Doctor rerum medicarum

des Fachbereichs Humanmedizin

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von Simone Florian

aus Freiberg/Sa.

Referent: Prof. Dr. med. H.-J. Buhr
Prof. Dr. med. Dr. sc. nat. G. Jacobasch

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. M. Hummel

Gedruckt mit der Genehmigung der Charité - Universitätsmedizin Berlin,
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 03. September 2003

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	IV
1 Einleitung	1
1.1 <i>Kolorektale Karzinogenese</i>	1
1.1.1 Sporadische kolorektale Karzinome	2
1.1.2 Hereditäre kolorektale Karzinome	3
1.1.2.1 Familiäre adenomatöse Polyposis	4
1.1.2.2 Hereditäre nicht-polypöse kolorektale Karzinome	4
1.2 <i>Chronisch entzündliche Darmerkrankungen</i>	5
1.2.1 Ursachen der CED	6
1.2.2 Immunregulationsprozesse im Darm	8
1.2.3 Kolitis-assoziiertes kolorektales Karzinom	10
1.2.4 Therapie der CED	10
1.3 <i>Oxidative Schädigung</i>	11
1.3.1 Lipoxygenasen	12
1.3.2 Cyclooxygenasen	14
1.3.3 Stickstoffmonoxid-Synthasen	15
1.3.4 Glutathionperoxidasen	16
1.4 <i>Ballaststoffe / Resistente Stärke als protektive Faktoren</i>	17
2 Zielstellung	21
3 Material und Methoden	23
3.1 <i>Chemikalien</i>	23
3.2 <i>Lösungen</i>	23
3.3 <i>Primärantikörper</i>	24
3.4 <i>Sekundärantikörper</i>	25
3.5 <i>Verbrauchsmaterial</i>	25
3.6 <i>Geräte</i>	26
3.7 <i>Patientengut - Probenmaterial</i>	26
3.8 <i>Tierexperimentelle Studien</i>	30
3.8.1 Haltung und Fütterung der Tiere	30
3.8.2 DMH-Tumormodell	32
3.8.2.1 Versuchsaufbau	32
3.8.2.2 Probenentnahme	32
3.8.2.3 Erfassung von Neubildungen	32
3.8.3 TNBS-Kolitismodell	33
3.8.3.1 Versuchsaufbau	33
3.8.3.2 Probenentnahme	33
3.8.3.3 Erfassung der Schwere des Entzündungsgrades	33
3.9 <i>Histologie und indirekte Immunhistochemie</i>	34
3.9.1 Gewebeaufarbeitung	34
3.9.2 H&E-Färbung	35
3.9.3 PAS-Färbung	35
3.9.4 Immunhistochemie - Einfachmarkierung	35
3.9.5 Immunhistochemie - Doppelmarkierung	37
3.9.6 Auswertung	37

3.10	<i>Mikroskopie / Mikrophotographie</i>	38
3.11	<i>Statistik</i>	38
4	Ergebnisse	39
4.1	<i>Semiquantitative Auswertung immunhistochemischer Untersuchungen</i>	39
4.2	<i>Kolorektale Tumore und CED des Menschen</i>	41
4.2.1	Histologische Klassifikation der Tumorproben	41
4.2.2	Histologischer Score zur Beurteilung des Entzündungsgrades bei CED	43
4.2.3	Immunhistochemie: deskriptive und semiquantitative Auswertung	45
4.2.3.1	15-LOX-1	46
4.2.3.1.1	Morphologisch intaktes kolorektales Gewebe	46
4.2.3.1.2	Sporadische kolorektale Tumore	46
4.2.3.1.3	Rektumgewebe von FAP-Patienten	47
4.2.3.1.4	Kolorektales Gewebe von CED-Patienten	47
4.2.3.2	15-LOX-2	47
4.2.3.2.1	Morphologisch intaktes kolorektales Gewebe	47
4.2.3.2.2	Sporadische kolorektale Tumore	49
4.2.3.2.3	Rektumgewebe von FAP-Patienten	51
4.2.3.2.4	Kolorektales Gewebe von CED-Patienten	52
4.2.3.3	COX-1	54
4.2.3.3.1	Morphologisch intaktes kolorektales Gewebe	54
4.2.3.3.2	Sporadische kolorektale Tumore	56
4.2.3.3.3	Rektumgewebe von FAP-Patienten	58
4.2.3.3.4	Kolorektales Gewebe von CED-Patienten	60
4.2.3.4	COX-2	62
4.2.3.4.1	Morphologisch intaktes kolorektales Gewebe - COX-2 mc	62
4.2.3.4.2	Sporadische kolorektale Tumore - COX-2 mc	64
4.2.3.4.3	Rektumgewebe von FAP-Patienten - COX-2 mc	67
4.2.3.4.4	Kolorektales Gewebe von CED-Patienten - COX-2 mc	69
4.2.3.4.5	Morphologisch intaktes kolorektales Gewebe – COX-2 pc	69
4.2.3.4.6	Sporadische kolorektale Tumore – COX-2 pc	71
4.2.3.4.7	Rektumgewebe von FAP-Patienten – COX-2 pc	73
4.2.3.4.8	Kolorektales Gewebe von CED-Patienten – COX-2 pc	74
4.2.3.5	iNOS	78
4.2.3.5.1	Morphologisch intaktes kolorektales Gewebe	78
4.2.3.5.2	Sporadische kolorektale Tumore	78
4.2.3.5.3	Rektumgewebe von FAP-Patienten	80
4.2.3.5.4	Kolorektales Gewebe von CED-Patienten	82
4.2.3.6	GI-GPx	84
4.2.3.6.1	Morphologisch intaktes kolorektales Gewebe	84
4.2.3.6.2	Sporadische kolorektale Tumore	84
4.2.3.6.3	Rektumgewebe von FAP-Patienten	87
4.2.3.6.4	Kolorektales Gewebe von CED-Patienten	90
4.2.3.6.5	Subzelluläre Lokalisation der GI-GPx	91
4.3	<i>DMH-Tumormodell der Ratte</i>	91
4.3.1	DMH-Modell und RS III: Inzidenz und Verteilung der Tumore	91
4.3.2	DMH-Modell und RS III: Immunhistochemie	95
4.3.2.1	8-LOX	95
4.3.2.2	COX-1	96
4.3.2.3	COX-2	98
4.3.2.4	iNOS	103
4.3.2.5	nNOS	107
4.3.2.6	GI-GPx	109
4.3.2.7	HSP25	110
4.4	<i>TNBS-Kolitismodell der Ratte</i>	114
4.4.1	Score zur Beurteilung des Entzündungsgrades bei TNBS-induzierter Kolitis	114
4.4.2	TNBS-Kolitis und RS III: Entzündungsverlauf	115
4.4.3	TNBS-Kolitis und RS III: Histologische Befundbeschreibung	115

4.4.4	TNBS-Kolitis und RS III: Immunhistochemie	117
4.4.4.1	COX-1	118
4.4.4.2	COX-2	119
4.4.4.3	iNOS	125
4.4.4.4	nNOS	129
4.4.4.5	GI-GPx	129
4.4.4.6	HSP25	133
5	Diskussion	136
5.1	<i>Kolorektale Karzinogenese</i>	136
5.1.1	Humane Gewebeproben – Graduierung und immunhistochemische Untersuchungen	136
5.1.1.1	COX	140
5.1.1.2	NOS	144
5.1.1.3	GI-GPx	146
5.1.1.4	15-LOX	148
5.1.2	Vergleichende Untersuchungen am DMH-Tumormodell der Ratte	151
5.1.2.1	COX	152
5.1.2.2	NOS	153
5.1.2.3	GI-GPx	154
5.1.2.4	15-LOX	155
5.1.2.5	HSP25	155
5.1.3	Einfluss von RS III auf die kolorektale Karzinogenese im DMH-Modell der Ratte	157
5.2	<i>CED</i>	160
5.2.1	CED – Graduierung und immunhistochemische Untersuchungen	160
5.2.1.1	COX	162
5.2.1.2	NOS	163
5.2.1.3	GI-GPx	165
5.2.1.4	15-LOX	166
5.2.2	Vergleichende Untersuchungen am TNBS-Kolitismodell der Ratte	166
5.2.2.1	COX	167
5.2.2.2	NOS	169
5.2.2.3	GI-GPx	170
5.2.2.4	15-LOX	171
5.2.2.5	HSP25	171
5.2.3	Einfluss von RS Typ III auf den Verlauf der TNBS-Kolitis der Ratte	172
6	Zusammenfassung	175
7	Ausblick	178
	Literaturverzeichnis	180
	Anhang	A1
	Dank	