

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	
1.1 Kolorektalkarzinom des Menschen	8
1.2 Kolorektale Lebermetastasen	8
1.3 Chirurgische Leberresektion	9
1.4 Laserinduzierte Thermotherapie (LITT)	11
1.5 Zytokine und mesenchymal- epitheliale Interaktionen	13
1.6 Der Hepatozyten- Wachstumsfaktor HGF	14
1.7 Entdeckung des HGF	15
1.8 Biologische Funktionen und Zielzellen	16
1.9 Der connective tissue growth factor (CTGF)	17
1.10 Fragestellung und Zielsetzung	19
2. Material und Methoden	
2.1 Materialien	21
2.1.1 Nd: YAG- Laser	21
2.1.1.1 Lichtübertragungssystem (Applikationssystem)	21
2.1.1.2 Lichtwellenleiter	21

2.1.1.3	Einkopplung	22
2.1.1.4	Streukörper (Diffuser- Tip Applikator)	22
2.1.2	Applikatorhalterung	23
2.1.3	Leistungsmessgerät	23
2.1.4	Temperaturmesseinheit	23
2.1.5	Versuchstiere	24
2.1.6	Tumorzellen	24
2.2	Methoden	24
2.2.1	Referenztumormodell	24
2.2.2	Vorbereitung der Tumorzellen zur Implantation	26
2.2.2.1	Tumorsuspensionsherstellung	26
2.2.3	Operationsvorbereitung	27
2.2.3.1	Narkose	27
2.2.3.2	Rasur und Lagerung	28
2.2.4	Operative Eingriffe	28
2.2.4.1	Tumorzellimplantation	28
2.2.4.1.1	Durchführung der Tumorzellimplantation	28
2.2.4.1.2	Haltung der Tiere nach Tumorzellimplantation	29
2.2.4.2	Experimentelle Prozeduren	29
2.2.4.2.1	Laserinduzierte Thermotherapie (LITT)	29
2.2.4.2.2	Leberresektion	30
2.2.4.2.3	„Scheinbehandlung“ der Kontrolltiere	31
2.2.4.3	Tötung der Tiere und Entnahme der Leber	31

2.2.5	Versuchstiergruppen	32
2.2.5.1	Gruppe I	33
2.2.5.2	Gruppe II	33
2.2.5.3	Gruppe III	34
2.2.6.	Vermessung der Referenztumoren	34
2.2.7	Histologische Aufarbeitung	35
2.2.7.1	Herstellung der Paraffinschnitte	35
2.2.7.2	Herstellung der Gefrierschnitte	35
2.2.7.2.1	Fixierung	35
2.2.7.2.2	Plasmide zur Herstellung der RNA- Sonden	36
2.2.7.2.3	Chemikalien	36
2.2.7.2.4	Fotochemikalien	36
2.2.7.2.5	Präparation von Objektträgern und Deckgläsern	37
2.2.7.2.6	Herstellung der Gewebeschnitte	37
2.2.7.2.7	Linearisierung und Transkription der Gensonden	37
2.2.7.2.8	Alkalische Hydrolyse	39
2.2.7.2.9	In-situ-Hybridisierung	40
2.2.7.2.10	Autoradiographie	41
2.2.7.2.11	HE- Färbung	41
2.2.8	Auswertekriterien	41
2.2.8.1	Makroskopische Beurteilung	41
2.2.8.1.1	Makroskopische Beurteilung der Referenztumoren	41
2.2.8.1.2	Makroskopische Beurteilung der Behandlungstumoren	42

2.2.8.2	Auswertung der Autoradiographien	42
2.2.9	Statistische Auswertung	42
3.	Ergebnisse	
3.1	Makroskopische Ergebnisse	44
3.1.1	Makroskopie der Referenztumoren	44
3.1.2	Makroskopische Vermessungen der Referenztumoren	44
3.1.2.1	Makroskopische Vermessungen der Referenztumoren nach 24 h	44
3.1.2.2	Makroskopische Vermessungen der Referenztumoren nach 48 h	44
3.1.2.3	Makroskopische Vermessungen der Referenztumoren nach 72 h	45
3.1.2.4	Makroskopische Vermessungen der Referenztumoren nach 96 h	45
3.1.2.5	Makroskopische Vermessungen der Referenztumoren nach 14 Tagen	45
3.1.3	Makroskopie der Behandlungstumore nach LITT	46
3.1.4	Peritonealkarzinose	46
3.1.4.1	Peritonealkarzinose in der Kontrollgruppe	46
3.1.4.2	Peritonealkarzinose in der Lasergruppe	47
3.1.4.3	Peritonealkarzinose in der Resektionsgruppe	47
3.1.5	Todesfälle vor Erreichen des Tötungszeitpunkts	47
3.2	Histologische Ergebnisse	47

3.2.1	Auswertung der Schnittpräparate der Referenztumoren	47
3.2.1.1	Histologische Morphologie der vitalen Referenztumoren	47
3.2.1.2	Histologische Morphologie der Behandlungstumoren nach LITT	48
3.2.1.2.1	Histologische Morphologie der Behandlungstumoren nach 24 h	48
3.2.1.2.2	Histologische Morphologie der Behandlungstumoren nach 48 h	48
3.2.1.2.3	Histologische Morphologie der Behandlungstumoren nach 72 h	49
3.2.1.2.4	Histologische Morphologie der Behandlungstumoren nach 96 h	49
3.2.1.2.5	Histologische Morphologie der Behandlungstumoren nach 14 Tagen	49
3.2.2	Qualitative Auswertung der mRNA- Expression für HGF	50
3.3	Semiquantitativer Nachweis der mRNA- Expression von HGF und CTGF bei den Referenztumoren	50
3.3.1	Semiquantitativer Nachweis der mRNA- Expression von HGF der Referenztumoren bei Laserung, Resektion und der Laparotomie (Kontrolle)	50
3.3.1.1	Semiquantitativer Nachweis der mRNA- Expression von HGF der Referenztumoren bei Laserung, Resektion und der Laparotomie (Kontrolle) nach 24 h	50
3.3.1.2	Semiquantitativer Nachweis der mRNA- Expression von HGF der Referenztumoren bei Laserung, Resektion und der Laparotomie (Kontrolle) nach 48 h	51
3.3.1.3	Semiquantitativer Nachweis der mRNA- Expression von HGF der Referenztumoren bei Laserung, Resektion und der Laparotomie (Kontrolle) nach 72 h	51

3.3.1.4	Semiquantitativer Nachweis der mRNA- Expression von HGF der Referenztumoren bei Laserung, Resektion und der Laparotomie (Kontrolle) nach 96 h	51
3.3.1.5	Semiquantitativer Nachweis der mRNA- Expression von HGF der Referenztumoren bei Laserung, Resektion und der Laparotomie (Kontrolle) nach 14 Tagen	52
3.3.2	Qualitative Auswertung der Expression für CTGF	53
3.3.3	Semiquantitativer Nachweis der mRNA- Expression von CTGF der Referenztumoren bei Laserung, Resektion und der Laparotomie (Kontrolle)	53
3.3.3.1	Semiquantitativer Nachweis der mRNA- Expression von CTGF der Referenztumoren bei Laserung, Resektion und der Laparotomie (Kontrolle) nach 24 h	53
3.3.3.2	Semiquantitativer Nachweis der mRNA- Expression von CTGF der Referenztumoren bei Laserung, Resektion und der Laparotomie (Kontrolle) nach 48 h	54
3.3.3.3	Semiquantitativer Nachweis der mRNA- Expression von CTGF der Referenztumoren bei Laserung, Resektion und der Laparotomie (Kontrolle) nach 72 h	54
3.3.3.4	Semiquantitativer Nachweis der mRNA- Expression von CTGF der Referenztumoren bei Laserung, Resektion und der Laparotomie (Kontrolle) nach 96 h	54

3.3.3.5	Semiquantitativer Nachweis der mRNA- Expression von CTGF der Referenztumoren bei Laserung, Resektion und der Laparotomie (Kontrolle) nach 14 Tagen	55
3.4	Temperaturentwicklung während der Laserapplikation	56
4.	Diskussion	
4.1	Begründung der Methoden	57
4.2	Wachstumsverhalten des Residualtumorgewebes	59
4.3	HGF- Expression	62
4.4	Unterschiedliche Expression von HGF und CTGF	63
4.5	Extrahepatische Tumormanifestation	64
5.	Zusammenfassung	67
6.	Literaturverzeichnis	69
7.	Danksagung	88
8.	Lebenslauf	90