

Medizinische Fakultät der Charité - Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin
aus dem Institut für Molekularbiologie und Biochemie
Abteilung: Molekularbiologie und Bioinformatik
Geschäftsführender Direktor: Univ.-Prof. Dr. Werner Reutter
Abteilungsleiter: Univ.-Prof. Dr. Burghardt Wittig

Analyse des Expressionsprofils
von humanen Hirnmetastasen unterschiedlicher Herkunft
im Vergleich zu Normalhirn und Glioblastoma multiforme

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
der Charité - Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von: Gudrun Katharina Dönneweg
aus: Hannover

Referent: Prof. Dr. B. Wittig
Koreferent: Prof. Dr. med. J. Weber

Gedruckt mit Genehmigung der Charité - Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 23.06.2006

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
2	Stand der Forschung	7
2.1	Astrozytäre Gliome	7
2.1.1	Klassifikation	7
2.1.2	Häufigkeit, Klinik und Diagnose	7
2.1.3	Therapie und Prognose	8
2.1.4	Molekulargenetische Unterschiede der verschiedenen Astrozytomstadien	10
2.2	Humane Hirnmetastasen	11
2.2.1	Häufigkeit, Klinik und Diagnose	11
2.2.2	Therapie und Prognose	13
2.2.3	Molekulargenetische Veränderungen in der Entwicklung von Metastasen	15
3	Ziele und Aufgabenstellung	17
4	Material und Methoden	18
4.1	Material	19
4.1.1	Tumorproben	19
4.1.2	Verwendete Puffer	19
4.2	Methoden	20
4.2.1	Isolation von total-RNA	20
4.2.2	RNA-Transfer	21
4.2.3	Plasmid Maxi-Präparation	22
4.2.4	Sequenzanalyse	23
4.2.5	Semiquantitative RT-PCR	25
4.2.6	Auswertungsmethode	26
5	Ergebnisse	28
5.1	Ergebnisse der RNA-Isolation	28
5.2	Ergebnisse der Plasmid-Maxi-Präparation und der Sequenzanalyse	30
5.3	Auswertung der semiquantitativen RT-PCR	30
5.3.1	Metastasen von Bronchialkarzinomen	30
5.3.2	Metastasen von Nierenzellkarzinomen	30
5.3.3	Metastasen von Mammakarzinomen	32
5.3.4	Metastasen von malignen Melanomen	32
5.3.5	Metastasen von unbekanntem Primärtumoren	33
5.3.6	primäre Glioblastome	34
5.3.7	sekundäre Glioblastome	34
5.3.8	rezidierte Glioblastome	35
6	Diskussion	38

<i>INHALTSVERZEICHNIS</i>	2
7 Zusammenfassung und Ausblick	42
A Danksagung	48
B Lebenslauf	49
C Erklärung an Eides Statt	50

Abbildungsverzeichnis

1	Schematische Darstellung bekannter genetischer Veränderungen	12
2	Reihenfolge der verschiedenen Arbeitsschritte	18
3	Transferaufbau	22
4	Schematische Darstellung eines Sequenzgels	24
5	Metastasen von Bronchialkarzinomen	31
6	Metastasen von Nierenzellkarzinomen	31
7	Metastasen von Mammakarzinomen	32
8	Metastasen von malignen Melanomen	33
9	Metastasen mit unbekanntem Primärtumor	33
10	primäre Glioblastome	34
11	sekundäre Glioblastome	34
12	rezidierte Glioblastome	35

Tabellenverzeichnis

1	WHO-Gradierung des Astrozytoms [8]	8
2	Primersequenzen	26
3	Anzahl und Art der bearbeiteten Tumorproben	28
4	RNA- Konzentrationen	29
5	Expressionsfaktoren von HIF-3 α in Metastasen von Bronchialkarzinomen .	30
6	Expressionsfaktoren von HIF-3 α in Metastasen von Nierenzellkarzinomen .	31
7	Expressionsfaktoren von HIF-3 α in Metastasen von Mammakarzinomen . .	32
8	Expressionsfaktoren von HIF-3 α in Metastasen von malignen Melanomen .	32
9	Expressionsfaktoren von HIF-3 α in Metastasen von unbekanntem Primär- tumoren	33
10	Expressionsfaktoren von HIF-3 α in primären Glioblastomen	35
11	Expressionsfaktoren von HIF-3 α in rezidierten Glioblastomen	36
12	Expressionsfaktoren von HIF-3 α in sekundären Glioblastomen	37

Abkürzungen

APS	Ammoniumpersulfat
cDNA	komplementäre DNA
CDK	Cyclin- abhängige Kinase
CT	Computertomografie
d	Tag
dH ₂ O	destilliertes Wasser
ddNTP	Didesoxyribonucleosidtriphosphat
DEPC	Diethylpyrocarbonat
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dATP	Desoxyadenosintriphosphat
dCTP	Desoxycytosintriphosphat
dGTP	Desoxyguanosintriphosphat
dNTP	Desoxyribonucleosidtriphosphat
dTTP	Desoxythymidintriphosphat
EGF	epidermal growth factor
EPO	Erythropoetin
EtBr	Ethidiumbromid
EtOH	Ethanol
Fa.	Firma
FGF	fibroblast growth factor
g	Erdbeschleunigung
GAPDH	Glyceraldehydphosphatdehydrogenase
GBM	Glioblastoma multiforme
GLUT1	Glucosetransporter 1
Gy	Gray
HIF	hypoxia-inducible factor
LOH	Loss of Heterocycosity
min	Minute(n)
mM	milliMolar
MMP	Matrix Metalloproteinase
MRT	Magnetresonanztomografie
NaOH	Natriumhydroxid
NGF	nerve growth factor
NT	Neurotropin
ODD	oxygen-dependent degradation domain
PCR	Polymerasekettenreaktion
PDGF	platelet-derived growth factor
RNA	Ribonukleinsäure
RT	Raumtemperatur
RT- PCR	Reverse Transkriptase-Polymerasekettenreaktion
RZPD	Resource Center/Primary Database (Deutsches Ressourcenzentrum für Genomforschung GmbH)

s	Sekunde(n)
SDS	Sodiumdodecylsulfat
50x TAE- Puffer	2 M Tris/Acetate 50 mM EDTA
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylethyldiamin
TGF α	tumor-growth-factor α
V	Volt
VHL	von-Hippel-Lindau Tumor Suppressorprotein
VEGF	vascular endothelial growth factor
WHO	Weltgesundheitsorganisation
ZNS	Zentrales Nervensystem