

## 1 Einleitung

Die Entwicklung neuer antitumoral wirksamer Substanzen ist eines der wichtigsten Ziele der onkologischen Forschung. Die präklinische Testung potentieller Chemotherapeutika an Tumormodellen mit möglichst hoher Aussagekraft ist hierbei von entscheidender Bedeutung.

Eines der ersten *in vitro* Testverfahren war die Prüfung antitumoral wirkender Substanzen an permanenten, humanen Tumorzelllinien. Es wird heute vor allen Dingen für automatisierte Hochdurchsatzscreens (HTS) verwendet. Etwas aufwendiger in der Handhabung ist der Tumorkolonie-Assay (TCA). Die Zellen wachsen als Kolonien in Softagar. Das dreidimensionale Wachstum im TCA simuliert das tatsächliche Wachstumsverhalten einer Tumorzellansammlung besser als das zweidimensionale Monolayersystem. Nichts desto trotz bleibt in solchen Systemen die Metabolisierung der Substanz im Organismus des betroffenen Individuums gänzlich unberücksichtigt. Im Tiermodell wird die Substanz von einem Organismus aufgenommen, metabolisiert und an den Tumor abgegeben. Damit lassen sich Rückschlüsse auf ihre Toxizität im Menschen und ihre Anreicherungsfähigkeit im Tumor ziehen. Zudem bietet das Tiermodell den entarteten Zellen die Möglichkeit, in einem histologisch intakten Verband zu wachsen, was ihr Verhalten gegenüber äußeren Einflüssen entscheidend beeinflusst.

Vor der Entwicklung der Nacktmaus mit ihren spezifischen immunologischen Eigenschaften, waren es zum einen chemisch induzierte und zum anderen transplantable Tumoren an Tieren, die für Forschungszwecke Verwendung fanden. In beiden Fällen wurden vor allen Dingen Mäuse und Ratten als Versuchstiere eingesetzt. Nachteil der autochtonen Tumoren, also solcher Geschwülste, die chemisch induziert wurden, ist der relativ große Aufwand bei ihrer Erzeugung. Die transplantablen Tumoren sind für den Einsatz großer Tierzahlen wesentlich besser geeignet und werden heute vor allem zur Testung von Immunmodulatoren eingesetzt, für deren Wirkmechanismus ein intaktes Abwehrsystem des Wirtes vonnöten ist.

Nach der Entwicklung der nu/nu-Mutante von Maus und Ratte war es erstmals möglich, Tumormaterial in einem heterologen Organismus wachsen zu lassen. Von praktisch allen Tumortypen konnten jetzt humane Tumormodelle geschaffen werden. Die humanen Tumorxenografts (HTX) kommen der klinischen Situation bedeutend näher als die vorgenannten Modelle. Die humanen Geschwulstzellen behalten auch im Laufe mehrerer Passagen auf der Nacktmaus ihre charakteristischen morphologischen Eigenschaften bei.

Die gängigste Implantationsmethode bei diesem Verfahren ist die Implantation von Tumorfragmenten unter die Haut der Nacktmaus bzw. -ratte. Darüber hinaus ist es möglich, die Tumorfragmente in das Organ zu implantieren, in dem sie einmal im Spenderorganismus entstanden sind. Man spricht dann von der orthotopen Implantation humaner Tumorxenografts.

In der vorliegenden Arbeit sollten mehrere subkutan auf der Nacktmaus wachsende humane Tumorxenografts orthotop ebenfalls in die Nacktmaus implantiert werden. Der direkte Vergleich beider Modelle eines Xenografts sollte es ermöglichen, eine Aussage darüber zu treffen, wo die Vor- und Nachteile der jeweiligen Implantationsmethode liegen.

In der ersten Arbeitsphase erfolgte die Auswahl der geeigneten Tumortypen. Die Auswahl der Xenografts beruhte auf verschiedenen Gesichtspunkten. Es sollten Tumortypen vertreten sein, die mit einer möglichst hohen Inzidenz in der Bevölkerung vorkommen. Die Histologie des Xenografts sollte typisch für den gewählten Tumortyp und sein Wachstum bei subkutaner Implantation regelmäßig sein. Zunächst sollten eine größere Anzahl von Tumormodellen an kleinen Tierzahlen getestet werden, um anschließend diejenigen mit den besten Angangs- und Metastasierungsraten an einer größeren Tierzahl weiter zu charakterisieren.

Im Rahmen dieser Charakterisierung sollte das Wachstumsverhalten eines jeden Modells ermittelt werden: Angangsrate, Verdoppelungszeit, Metastasierungs- und Infiltrationsverhalten, sowie histologischer Aufbau sollten von jedem Tumor bestimmt und mit dem subkutan wachsenden Xenograft verglichen werden. Zum Nachweis makroskopisch nicht sichtbarer Metastasen sollten immunhistologische Methoden zum Einsatz kommen.

Als weiteren Parameter der Tumorcharakterisierung sollte die vaskuläre Permeabilität der Tumoren gemessen werden. Im Vergleich mit den subkutan wachsenden Xenografts sollte vor allen Dingen die Frage geklärt werden, ob die Gefäßstruktur des Tumors und seiner Metastasen von der direkten Umgebung beeinflusst wird. Oder ob die Permeabilität der Tumorgefäße eine Eigenschaft ist, die im Zellgenom so fest verankert ist, daß sie sich unbeeinflusst vom Nährstoffangebot und den histologischen Gegebenheiten des Ansiedlungsortes entwickelt.

Abschließend sollten die orthotopen Tumormodelle auf ihre Chemosensitivität gegenüber ausgewählten Standardzytostatika getestet werden. In diesen Versuchen sollten mehrere Fragen beantwortet werden:

1. Sind orthotop implantierte Tumoren für eine Zytostatika -Testung an einer größeren Tierzahl geeignet? Hierbei sollte vor allem die Frage der Durchführbarkeit der Implantation großer Tierzahlen und die Möglichkeiten der Kontrolle des Wachstumsverlaufes *in situ* evaluiert werden.
2. Verändert sich die Empfindlichkeit der subkutan bereits etablierten Xenografts auf Standardchemotherapien, wenn sie in ihr Ursprungsorgan implantiert werden? Aus dieser Frage ergibt sich, ob das weniger zeit- und arbeitsintensive subkutane Modell als Versuchsreihe mit Selektionscharakter vor die Testung am orthotop implantierten Tumor geschaltet werden kann.
3. Wirken sich die ausgewählten Arzneimittel in einer statistisch relevanten Weise auf das Metastasierungsverhalten der Geschwulste aus? Hieraus ergibt sich gleichzeitig, ob die Modelle für Testungen antimetastatisch wirksamer Substanzen geeignet sind.

Da für die Chemotherapieversuche erneut die orthotope Implantation von Tumorfragmenten auf eine größere Anzahl von Tieren nötig wurde, war die Möglichkeit gegeben, die oben genannten Basisdaten der Tumoren durch eine Reproduktion zu bestätigen.

Für breite therapeutische Untersuchungen hat sich die subkutane Implantation als klar überlegen erwiesen. Modellhaft sollte in der vorliegenden Dissertation geprüft werden, für welche Fragestellungen die orthotope Implantation Vorteile bietet und wo ihre Grenzen sind.