

Aus dem Institut für Biologie,
Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät I
der Humboldt-Universität zu Berlin

DISSERTATION

**Adenovirusvermittelte Überexpression von tissue
inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) in der Leber:
Wirksamer Schutz vor hepatischen Manifestationen eines
T-Zell Lymphoms und eines Kolonkarzinoms**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité -
Universitätsmedizin Berlin

von

Sefer Elezkurtaj
aus Augsburg

Gutachter: 1. Priv. Doz. Dr. med. K. Brand

2. Prof. Dr. med. E. Roeb

3. Priv. Doz. Dr. med. G. Kristiansen

Datum der Promotion: 22. Juni 2007

Inhalt

- 1. Adenovirusvermittelte Überexpression von tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) in der Leber: Wirksamer Schutz vor hepatischen Manifestationen eines T-Zell Lymphoms und eines Kolonkarzinoms**
 - 1.1. Einleitung
 - 1.2. Ergebnisse, Methodik
 - 1.2.1. Metastasierung in der Leber induziert MMP-9 Expression. Nachweis von MMP-2 und -9 durch Gelatine-Zymographie.
 - 1.2.2. Expression von funktionsfähigem TIMP-1 in vitro, inverse Zymographie.
 - 1.2.3. Effizienz der adenoviralen Infektion in vivo
 - 1.2.4. Adenoviraler TIMP-1-Genstransfer erzielt im Vergleich mit transgenen Tieren ein höheres Expressionsniveau
 - 1.2.5. Metastasierungsexperimente. Inhibitorische Wirkung von TIMP-1 in unabhängigen Mausmodellen
 - 1.3. Diskussion
- 2. Leberkarzinomzellen mit konstitutiver Expression adenoviraler E1-Gene als Grundlage für ein Modell intratumoraler Replikation E1-defizienter Adenoviren**
- 3. Microarrayanalyse der Wirtsgenexpression in der Invasionsfront kolorektaler Lebermetastasen**
- 4. Literatur**
- 5. Anhang**
 - 5.1. Erklärung zum Anteil an den Publikationen
Erklärung zur Eigenständigkeit
 - 5.2. Originalarbeiten
 - 5.2.1. Elezkurtaj S *et al.* Adenovirus-mediated overexpression of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in the liver: efficient protection against T-cell lymphoma and colon carcinoma metastasis. *J Gene Med* 2004
 - 5.2.2. Cichon G *et al.* Hepatocarcinoma cells constitutively expressing adenoviral E1-genes provide a tumor model for intratumoral replication of E1-deficient adenoviruses. *Anticancer Res* 2002
 - 5.2.3. Bandapalli OR *et al.* Global analysis of host tissue gene expression in the invasive front of colorectal liver metastasis. *Int J Cancer* 2006
 - 5.3. Lebenslauf, Danksagung

5. Anhang

5.1. Erklärung zum Anteil an den Publikationen

1. Elezkurtaj S, Kopitz C, Baker AH, Perez-Cantó A, Arlt MJ, Khokha R, Gänsbacher B, Anton M, Brand K, Krüger A.

Adenovirus-mediated overexpression of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in the liver: efficient protection against T-cell lymphoma and colon carcinoma metastasis.

J Gene Med 2004, 6: 1228-37

Kultivierung und Testung diverser Zelllinien *in vitro* und im Tierversuch zur Evaluation ihrer MMP-Expression, Tumorigenität und Eignung für die TIMP-1-Gentherapie. Selbständige Planung und Durchführung der Tierversuche zu CT-26. Gelatinezymographie der in der Publikation dargestellten sowie aller getesteten Zelllinien. *In vitro*-Expression von TIMP-1 und Prüfung in der inversen Zymographie. ELISA-Experimente zu Höhe und Verlauf der Genexpression durch TIMP-1 in Nacktmäusen (nicht publiziert). Immunhistochemie zu CD31, hierzu Etablierung der catalysed reporter deposition in unserem Labor. Selbständige Planung und Niederschrift des größten Teils der Originalarbeit.

2. Cichon G, Boeckh-Herwig S, Elezkurtaj S, Schmidt HH, Hofmann C, Arnold W.

Hepatocarcinoma cells constitutively expressing adenoviral E1-genes provide a tumor model for intratumoral replication of E1-deficient adenoviruses.

Anticancer Res 2002, 22: 197-202

ELISA-Experimente, Beteiligung an Tierversuchen. Beteiligung an Planung und Niederschrift der Originalarbeit.

3. Bandapalli OR, Geheeb M, Kobelt D, Kuehnle K, Elezkurtaj S, Herrmann J, Gressner AM, Weiskirchen R, Beule D, Blüthgen N, Herzel H, Franke C, Brand K.

Global analysis of host tissue gene expression in the invasive front of colorectal liver metastasis.

Int J Cancer 2006, 118: 74-89

Beteiligung an der Zellkultur. Tierversuche zur Gewinnung von Tumormaterial. Beteiligung an der Herstellung von Kryostatschnittpräparaten und Optimierung des Färbeprozesses für die Lasermikrodissektion. Herstellung von Paraffinschnitten für HE-gefärbte Präparate und Immunhistochemie. Beteiligung an Planung und Niederschrift der Originalarbeit.

Erklärung zur Eigenständigkeit

Ich, Sefer Elezkurtaj, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Adenovirusvermittelte Überexpression von tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) in der Leber: Wirksamer Schutz vor hepatischen Manifestationen eines T-Zell Lymphoms und eines Kolonkarzinoms“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Berlin, 10.12.2006

5.2. Originalarbeiten

- 5.2.1. Elezkurtaj S, Kopitz C, Baker AH, Perez-Cantó A, Arlt MJ, Khokha R, Gänsbacher B, Anton M, Brand K, Krüger A. **Adenovirus-mediated overexpression of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in the liver: efficient protection against T-cell lymphoma and colon carcinoma metastasis.** *J Gene Med.* 2004; 6: 1228-37

5.2.2. Cichon G, Boeckh-Herwig S, Elezkurtaj S, Schmidt HH, Hofmann C, Arnold W. **Hepatocarcinoma cells constitutively expressing adenoviral E1-genes provide a tumor model for intratumoral replication of E1-deficient adenoviruses.** *Anticancer Res.* 2002; 22(1A):197-201

- 5.2.3. Bandapalli OR, Geheeb M, Kobelt D, Kuehnle K, Elezkurtaj S, Herrmann J, Gressner AM, Weiskirchen R, Beule D, Blüthgen N, Herzel H, Franke C, Brand K. **Global analysis of host tissue gene expression in the invasive front of colorectal liver metastasis.** *Int J Cancer.* 2006; 118: 74-89

5.3. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Karsten Brand für seine jahrelange, unermüdliche Unterstützung und das mir entgegengebrachte Vertrauen.

Auch allen anderen Mitgliedern unserer Arbeitsgruppe sei herzlich gedankt für ungezählte Hilfestellungen und aufrichtige Kollegialität, stellvertretend darf ich hier Herrn PD Dr. med. Günter Cichon und Herrn Obul-Reddy Bandapalli MSc dankend hervorheben.

Nicht zuletzt den Koautoren, vor allem Frau Dipl.-Biol. Charlotte Kopitz und Herrn PD Dr. rer. nat. et med. Achim Krüger sowie natürlich all jenen die nicht namentlich erwähnt wurden, gebührt gleichermaßen mein tiefer Dank. Etwaige Fehler bzw. Ungenauigkeiten sind freilich ein Hinweis auf meine Urheberschaft.