

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 EPIDEMIOLOGIE	1
1.2 PATHOLOGIE	2
1.3 MOLEKULARBIOLOGIE.....	3
1.4 DIAGNOSTIK	7
1.4.1 Symptome.....	7
1.4.2 Konventionelle bildgebende Diagnostik	8
1.4.3 Labordiagnostik.....	9
1.4.4 Stadieneinteilung und Prognose	11
1.5 THERAPIE.....	13
2 Herleitung der Aufgabenstellung	15
3 Material und Methoden	18
3.1 MATERIAL.....	18
3.1.1 Chemikalien	18
3.1.2 DNA-Präparation.....	18
3.1.3 Enzyme	18
3.1.4 Zelllinien und Bakterienstämme	19
3.1.5 Oligonukleotide	19
3.1.6 Geräte	20
3.1.7 Verschiedenes	20
3.1.8 Puffer und Lösungen.....	21
3.1.9 Medien	22
3.2 METHODEN.....	23
3.2.1 Gewinnung von Plasma aus Vollblut.....	23
3.2.2 Isolierung genomischer Plasma-DNA mittels QIAamp® DNA Blood Midi Kit	23
3.2.3 Isolierung genomischer Plasma-DNA mittels QIAamp® DNA Mini Kit.....	24
3.2.4 Isolierung genomischer Gewebe-DNA mittels QIAamp® DNA Mini Kit.....	25
3.2.5 Ethanol-Fällung genomischer DNA.....	26
3.2.6 Agarose-Gelelektrophorese von PCR-Produkten	27
3.2.7 Klonierung.....	28

3.2.8 Echtzeit-PCR	33
3.2.9 Statistische Methoden.....	39
4 Ergebnisse.....	41
4.1 OPTIMIERUNG DER ECHTZEIT-PCR MIT FLUORESZENZSONDEN UND PNAS	41
4.1.1 PCR-Komponenten und -Bedingungen.....	41
4.1.2 Sensitivität der Methode beim Nachweis von K-ras-Mutationen	47
4.1.3 Nachweis von K-ras-Mutationen in klinischen Proben	51
4.1.4 Zusammenfassung der Optimierungsversuche.....	52
4.2 PATIENTENBEZOGENE DATEN.....	53
4.2.1 Klinische Charakteristika der untersuchten Patienten.....	53
4.2.2 Nachweis von K-ras-Mutationen im peripheren Blut	55
4.2.3 Bestimmung des K-ras-Status als Parameter des Krankheitsverlaufes	58
4.2.4 Fallbeispiele	61
4.2.5 K-ras-Status und Tumormarker CA 19-9.....	62
4.2.6 Nachweis von K-ras-Mutationen im Pankreasgewebe.....	65
5 Diskussion.....	68
5.1 OPTIMIERUNG DER ECHTZEIT-PCR MIT FLUORESZENZSONDEN UND PNAS	68
5.2 NACHWEIS VON K-RAS-MUTATIONEN BEIM PANKREASKARZINOM.....	73
5.3 FAZIT UND AUSBLICK	80
6 Zusammenfassung	81
7 Literaturverzeichnis	83
Abkürzungsverzeichnis	90
Tabellenverzeichnis	92
Abbildungsverzeichnis	93
Curriculum vitae	94
Publikationen.....	95
Danksagung.....	96
Erklärung an Eides Statt	97