

Aus dem Centrum für Anatomie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**„Vorkommen, Häufigkeit und differentielle Expression aus-
gewählter Gefäßwachstumsfaktoren und ihrer Rezeptoren in
den Stadien der Barrett-Karzinogenese.“**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von
Christine Stanek
aus Berlin

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. Th. Jöns
 2. Priv.-Doz. Dr. W. Kemmner
 3. Prof. Dr. S. Ergün

Datum der Promotion: 29.07.2008

„Wenn du willst, dass Menschen ein Schiff bauen,
gib ihnen nicht einen Plan oder Hammer und Nägel,
sondern entzünde in ihnen die Sehnsucht
nach dem weiten offenen Meer.“

Antoine de Saint-Exupéry

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	9
1.1	Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese des Barrett-Karzinoms	9
1.2	Makroskopische und mikroskopische Anatomie des Ösophagus	10
1.3	Histologisch-pathologische Definitionen	10
1.3.1	Barrett-Mukosa	10
1.3.2	Barrett-Dysplasie	12
1.3.3	Barrett-Karzinom	13
1.4	Bildung und Wachstum von Blut- und Lymphgefäßen	14
1.4.1	Physiologische und pathologische Angiogenese	14
1.4.2	Angiogenese und chronische Entzündung	16
1.4.3	Physiologische und pathologische Lymphangiogenese	17
1.5	Angiogenese- und Lymphangiogenesemarker	18
1.5.1	Gefäßwachstumsfaktoren VEGF-A, -C und -D	18
1.5.2	VEGF-Rezeptoren 1, 2 und 3	19
1.5.3	Endothelzellmarker CD31 und LYVE-1	22
1.6	Aktueller Stand der Forschung und Fragestellung	23
2	MATERIAL UND METHODEN	26
2.1	Patienten und Gewebeproben	26
2.2	Material	28
2.2.1	Verwendete Chemikalien	28
2.2.2	Lösungen	30
2.2.3	Geräte und andere Labormaterialien	32
2.3	Antikörper	34
2.3.1	Primärantikörper	34
2.3.2	Sekundärantikörper	35

2.4 Immunhistochemische Methoden	35
2.4.1 Direkte und indirekte Nachweisverfahren	35
2.4.2 Behandlung der Gefrier- und Paraffinschnitte	37
2.5 Auszählung der immunmarkierten Epithelzellen und Gefäße – Statistische Bearbeitung der erhobenen Daten	41
3 ERGEBNISSE	44
3.1 Immunhistochemische Färbemuster und Spezifität der verwendeten Antikörper	44
3.2 Vorkommen und Häufigkeit der untersuchten Gefäßwachstumsfaktoren und Rezeptoren	49
3.2.1 Expression von VEGF-A, -C und -D in Epithelzellen	49
3.2.2 Expression der VEGF-Rezeptoren in Gefäßendothelien	52
3.2.3 Expression der VEGF-Rezeptoren in Epithelzellen	56
3.3 Statistische Korrelationsberechnungen	60
3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse	67
4 DISKUSSION	68
4.1 Interpretation der Kernergebnisse	69
4.1.1 Epitheliale Expression der Angiogenesemarker	69
4.1.2 Endotheliale Expression der Angiogenesemarker	71
4.2 Einordnung der Befunde in das bisherige Angiogenesekonzept in refluxassoziierten Veränderungen des Ösophagus	72
4.3 Klinische Implikationen der Ergebnisse	76
5 ZUSAMMENFASSUNG	78
6 LITERATURVERZEICHNIS	82

ANHANG

Lebenslauf	94
Publikationsliste	95
Danksagung	96
Eidesstattliche Erklärung	97

Abkürzungsverzeichnis

ABC	Avidin-Biotin- (Peroxidase-) Complex
AEC	3-Amino-9-Ethylcarbazol
dest.	destilliert
GS	Gefrierschnitte
HCl	Salzsäure
HGD	High Grade Dysplasia
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
LGD	Low Grade Dysplasia
M	Molare Masse (in g/mol)
mM, μM	millimolar, mikromolar
MVD	Microvessel Density
PBS	Phosphate Buffered Saline
PS	Paraffinschnitte
RT	Raumtemperatur
SAP	Streptavidin-Alkalische Phosphatase (-Komplex)
SMA	Smooth Muscle Actin
TBS	Tris Buffered Saline
TNM	Tumorklassifikationssystem, das auf Tumorgröße (T1-4), Befall von Lymphknoten (N0-3) und Nachweis von Fernmetastasen (M0/1) beruht

Abkürzungen von Gefäßwachstumsfaktoren, Rezeptoren und Gefäßmarkern

VEGF-A	Vascular Endothelial Growth Factor A (= VPF: Vascular Permeability Factor)
VEGF-C	Vascular Endothelial Growth Factor C
VEGF-D	Vascular Endothelial Growth Factor D
PIGF	Placenta Growth Factor
VEGFR-1	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1 (= Flt-1: Fms-Like Tyrosine Kinase 1)
VEGFR-2	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 (= Flk-1: Fetal Liver Kinase 1; = KDR: Kinase Domain Region)
VEGFR-3	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 3 (= Flt-4: Fms-Like Tyrosine Kinase 4)
CD31	Cluster of Differentiation 31 (= PECAM-1: Platelet/Endothelial Cell Adhesion Molecule-1; = EndoCAM: Endothelial Cell Adhesion Molecule)
LYVE-1	Lymphatic Vessel Endothelial Hyaluronan Receptor 1

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Seite 11	Abb. 8	Seite 48
Abb. 2	Seite 12	Abb. 9	Seite 50
Abb. 3	Seite 13	Abb. 10	Seite 52
Abb. 4	Seite 14	Abb. 11	Seite 54
Abb. 5	Seite 41	Abb. 12	Seite 56
Abb. 6	Seite 46	Abb. 13	Seite 58
Abb. 7	Seite 47	Abb. 14	Seite 59

Lebenslauf

Aus Datenschutzgründen wird in der elektronischen Version meiner Dissertation der Lebenslauf nicht angezeigt.

Publikationsliste

Kongressbeitrag:

Ch. Stanek, M. Vieth, C. Meier, M. Höcker, T. Jöns

„The role of Vascular Endothelial Growth Factors A, C, D and their receptors in progression and metastasis of Barrett's adenocarcinoma.“

23. Arbeitstagung der Anatomischen Gesellschaft in Würzburg (27.09. – 29.09.2006)

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde am Centrum für Anatomie der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin unter Leitung von Herrn PD Dr. rer. nat. Thomas Jöns angefertigt.

Herrn PD Dr. rer. nat. Thomas Jöns danke ich für die freundliche Übertragung des Themas und für seine hervorragende Betreuung, Hilfsbereitschaft und Geduld. Er hat mir eigenständiges Arbeiten ermöglicht und meine Ideen stets unterstützt.

Danken möchte ich zudem Herrn Prof. Dr. med. Michael Höcker von der Firma Astra Zeneca GmbH in Wedel für seine fachlichen Hinweise und Anregungen.

Großer Dank gebührt auch Frau Carola Meier für ihre Hilfe beim Erlernen der verwendeten Methoden, für notwendige Nachinkubationen einiger Fälle nach Ablauf des Forschungssemesters sowie für ihre unschätzbare „mentale Unterstützung“.

Nicht vergessen möchte ich überdies Herrn PD Dr. Dr. med. Michael Vieth aus dem Institut für Pathologie der Universität Bayreuth, der mir als Pathologe beratend zur Seite stand, sowie Herrn Christoph Wißmann, PhD, und Frau Dr. med. Eva Göncz von der Charité für ihre freundliche Hilfsbereitschaft zu Beginn meiner Promotion. Herrn Dr. rer. nat. Markus Höltje danke ich für das Korrekturlesen des Abstracts und des Kongressbeitrages der 23. Arbeitstagung der Anatomischen Gesellschaft.

Für die Beratung in Fragen der Statistik danke ich ferner Herrn PrD Dr. rer. nat. Dr. med. Werner Hopfenmüller aus dem Institut für medizinische Biometrie der Charité.

Meinen Freunden danke ich für die Aufmunterungen und den seelischen Beistand.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern – für die unermüdliche „Rückenstärkung“ und vor allen Dingen für die Ermöglichung des Forschungssemesters – ohne dieses wäre die Arbeit nie zustande gekommen.

Meine Arbeit wurde gefördert durch ein Forschungsstipendium der Charité sowie durch eine studienbegleitende Forschungsförderung. Für diese finanzielle Hilfe möchte ich ebenfalls meinen Dank aussprechen.

Erklärung

Ich, Christine Stanek, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema:

„Vorkommen, Häufigkeit und differentielle Expression ausgewählter Gefäßwachstumsfaktoren und ihrer Rezeptoren in den Stadien der Barrett-Karzinogenese.“

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, den 19.03.2008