

1 Einleitung

Angiogenese bezeichnet die Sprossung neuer Blutgefäße aus bereits bestehenden Kapillaren [FOLKMAN und HAUDENSCHILD, 1980]. Sie erfolgt in einer charakteristischen Kaskade, welche die Phasen der Migration, Proliferation und Differenzierung der vaskulären Endothelzellen, sowie die Bildung eines Lumens, umfaßt.

Angiogenese ist eine Voraussetzung für Wachstum und Differenzierung von Organen und Geweben, weil sie die Versorgung mit Nährstoffen und Sauerstoff gewährleistet. Abgesehen von der elementaren Bedeutung der Angiogenese während der embryonalen Entwicklung, spielt sie im gesunden, adulten Organismus hauptsächlich bei der Entwicklung des Gelbkörpers, der Plazenta und der Milchdrüse eine Rolle [RISAU, 1997].

Jedoch ist Angiogenese an einer Vielzahl pathologischer Prozesse, beispielsweise beim Wachstum und der Metastasierung eines Tumors sowie bei bestimmten Formen der Arthritis und der Retinopathie, beteiligt [FOLKMAN, 1995].

Sowohl die Stimulation der Angiogenese zur Ausbildung neuer Kapillaren in einem ischämischen Gebiet, als auch ihre Inhibierung, die sogenannte Antiangiogenese, zur Hemmung von Tumorwachstum und –metastasierung, sind von besonderem therapeutischen Interesse [FOLKMAN, 1984; IBUKIYAMA, 1996].

Die Regulation der Angiogenese und Antiangiogenese im Organismus erfolgt durch verschiedene lösliche Faktoren, von denen zahlreiche noch nicht identifiziert sind. Überdies befindet sich die Untersuchung der Wirkung der meisten pro- bzw. antiangiogenen Faktoren noch in frühen experimentellen Stadien. Ein besonderes Interesse gilt auch der Entwicklung synthetischer Aktivatoren und Inhibitoren der Angiogenese.

Die Quantifizierung der Angiogenese und Antiangiogenese ist eine grundlegende Bedingung für die Ermittlung der angiogenen bzw. antiangiogenen Wirkung einer Substanz. Diese quantitativen Untersuchungen finden bislang vor allem in Tiermodellen statt, von denen viele, insbesondere die am Auge verschiedener Wirbeltiere durchgeführten Versuche [ASHTON und COOK, 1953], sehr umstritten sind.

Als Ersatz- und Ergänzungsmethode zum Tierversuch ist daher die Entwicklung und Etablierung von Methoden zur Quantifizierung der Angiogenese und Antiangiogenese in vitro von besonderer Relevanz.

Da Angiogenese definiert ist als die Bildung neuer Gefäße, impliziert dies die Notwendigkeit der dreidimensionalen Organisation der Endothelzellen in kapillarähnliche Strukturen in vitro. In einem in vitro-Modell, das in vivo-Untersuchungen ergänzen und vielleicht ersetzen soll, ist die Quantifizierung aller Phasen der Angiogenese, also auch die Bildung kapillarähnlicher Strukturen, eine zwingende Voraussetzung.

Bislang wurden unterschiedliche Modelle von Endothelzellkulturen vorgestellt, in denen verschiedene Formationen endothelialer Strukturen als „kapillarähnliche Strukturen“ bezeichnet wurden [VAILHÉ et al., 2001]. Eine Quantifizierung der in vitro-Angiogenese erfolgte allerdings nur selten. Lediglich einzelne Phasen der Angiogenese, meist nur die Migration oder Proliferation der Endothelzellen, wurden dabei berücksichtigt [BISHOP et al., 1999]. Für die vorliegende Untersuchung standen mehrere Zell-Linien aus dem bovinen Corpus luteum, die sämtliche Phasen der Angiogenese zeigten, zur Verfügung [PLENDL, 1997; PLENDL und SINOWATZ, 1999].

Das Ziel dieser Studie war es, eine Methode zur Quantifizierung der Angiogenese und Antiangiogenese in einem in vitro-Modell zu etablieren, welches als Ersatz- bzw. Ergänzungsmethode zum Tierversuch eingesetzt werden kann. Mit dieser Methode sollten alle Phasen der Angiogenese in vitro quantifizierbar sein. Zu berücksichtigen war auch, dass die Quantifizierungsmethode von verschiedenen Untersuchern durchgeführt werden kann, reproduzierbar ist und sich der Zeit- und Kostenaufwand in einem vertretbaren Rahmen bewegt.