

1 Einleitung

Für die Neubildung von Blutgefäßen sind zwei Hauptmechanismen verantwortlich, Vaskulogenese und Angiogenese. Vaskulogenese nennt man die Determination und Differenzierung endothelialer Progenitorzellen aus dem Mesoderm und ihre *de novo* Organisation zu einem primitiven Gefäßnetz. Im Anschluss an die primäre Vaskulogenese kommt es zur Angiogenese, der Entwicklung neuer Kapillaren aus bereits existierenden Blutgefäßen und der Expansion, Verzweigung und dem Remodeling des primären Gefäßnetzes. Vaskulogenese und Angiogenese spielen in der präpartalen Entwicklung eine herausragende Rolle, beim gesunden Adulten ist die physiologische Neubildung von Blutgefäßen bis auf wenige Ausnahmen herunterreguliert. Diese Ausnahmen betreffen insbesondere die zyklischen Vorgänge im weiblichen Organismus, nämlich die Entwicklung des Corpus luteum, die Entwicklung der Plazenta und die Anbildung der Mamma post partum. Alle anderen Formen der Gefäßbildung im adulten Organismus kommen im Verlauf von pathologischen Prozessen vor, wie beispielsweise bei der Wundheilung, bei Arthritiden, Retinopathien und beim Wachstum von Tumoren.

Das Corpus luteum ist ein ausgezeichnetes Modell der Blutgefäßentwicklung. Die quantitativ stärksten Angiogeneseprozesse überhaupt setzen nach der Ovulation im Zusammenhang mit der Bildung des Corpus luteum ein und die Intensität des Wachstums im Corpus rubrum ist stärker als das Proliferationspotential sämtlicher maligner Tumoren. Eine Erklärung für das enorme angiogene Potential dieses Organs fehlt bislang.

Die Arbeitsgruppe um Plendl beschäftigt sich seit mehreren Jahren mit der Etablierung von Modellen der Blutgefäßbildung *in vitro* (Plendl et al., 1996b; Plendl, 1997; Budde, 1999; Fuchs-Schönleber, 1999; Schuster, 2002; Bahramsoltani, 2003; Lienau, 2003; Lienau et al., 2005). Dazu wurden u. a. mikrovaskuläre Endothelzellen aus dem Gelbkörper verschiedener Entwicklungsstadien von Schlachtrindern isoliert, identifiziert und charakterisiert sowie eine Methode zur Quantifizierung der Angiogenese geschaffen. Ein auffälliger und neuer Befund war, dass trotz standardisierter Kultivierungsbedingungen Endothelzellkulturen des Gelbkörpers unterschiedliche angiogene Potenz zeigten. Neben hoch angiogenen Kulturen, die nach anfänglich verschiedenartigen morphologischen Wachstumsmustern ein

komplexes, kapillarähnliches Netz mit kontinuierlichem Lumen *in vitro* bildeten, wurden auch nicht-angiogene Kulturen etabliert.

Es ist bekannt, dass Endothelzellen eine heterogene Zellpopulation darstellen und dass ihre Heterogenität abhängt von Spezies, Geschlecht, Entwicklungsstand, Organ und Lokalisation innerhalb eines Organs. Dabei kann sich endotheliale Heterogenität u. a. auf Unterschiede in Struktur, Funktion, metabolischen Eigenschaften sowie Expression von Wachstumsfaktoren und Oberflächenrezeptoren erstrecken. Eine Heterogenität im Sinne einer unterschiedlichen angiogenen Potenz von Endothelzellkulturen eines Organs war bisher noch nicht beschrieben worden.

Ziel dieser Arbeit war daher, eine vergleichende Untersuchung der funktionell heterogenen Kulturen mikrovaskulärer Endothelzellen (nicht angiogen bis hoch angiogen) auf morphologischer und molekularer Basis durchzuführen. Dabei sollten zum einen die Schritte der angiogenen Kaskade einschließlich der Bildung des Lumens, so vorhanden, systematisch erfasst, morphologisch dargestellt und verglichen werden. In diesem Zusammenhang sollte auch das Vorkommen von Apoptosen *in vitro* geprüft werden. Ultrastrukturelle Untersuchungen sollten Unterschiede in Morphologie und Aktivität der Zellen und gefäßähnlichen Strukturen *in vitro* beleuchten. Die Expression der Rezeptoren VEGF-R1 und VEGF-R2 des wichtigsten Angiogenesefaktors (VEGF) sollte erfasst werden. Weiterhin sollte sowohl die Kommunikation zwischen den Endothelzellen bzw. zwischen Endothelzellen und extrazellulärer Matrix als auch die dreidimensionale Gefäßbildung durch Lokalisierung geeigneter Oberflächenantigene und Adhäsionsmoleküle demonstriert werden.

Ein weiteres, besonders wichtiges Ziel bestand schließlich darin, zu eruieren, ob in den hoch angiogenen Endothelzellkulturen möglicherweise spezialisierte Zellen im Sinne von Stamm- oder Progenitorzellen eine kritische und initiierende Rolle bei der Gefäßentwicklung im Corpus luteum einnehmen.

Die Aufklärung der genannten Fragen sollte zur weiteren Charakterisierung und Optimierung von *in vitro* Modellen der Gefäßbildung beitragen, die als Ergänzung bzw. potentielle Alternative zu Tierversuchen dienen können.