

bei Raumtemperatur inkubierte. Anschließend wurden die Objektträger dreimal in PBS gespült und es erfolgte die Kernfärbung mit DAPI (4',6'-Diamidino-2-phenylindol-Dihydrochlorid) (Verdünnung 1:200 mit PBS). Dann wurden die Objektträger dreimal in PBS-Küvetten gewaschen und mit Immu-Mount eingedeckt. In jeder Objektkammer wurden 5 Areale ausgewählt und in ihnen das Verhältnis der α -SMA-positiven zu α -SMA-negativen Zellen bestimmt. Alle Versuche wurden jeweils als Triplikat durchgeführt.

3.10. Statistik

Die graphische Darstellung erfolgte mit GraphPad Prism® Version 4.02 vom 17. Mai 2004 (GraphPad Software, San Diego, CA). Die statistischen Analysen wurden mit Microsoft Excel und GraphPad Prism® durchgeführt. Verwendet wurden der Student's t-Test für verbundene Stichproben zum Vergleich der Ergebnisse zweier Messungen an denselben Patienten, die Bonferoni-Korrektur zur Korrektur des α -Fehlers und die einfaktorielle ANOVA (analysis of variance). Das Signifikanzniveau nach Bonferoni-Korrektur für Proliferation und Fibronectinproduktion lag bei $p < 0,001$ und für Migration und Transformation bei $p < 0,008$.

Kapitel 4. Ergebnisse

4.1. Zytotoxizität

5-FU und Suramin zeigten auch nach 72h Inkubation in allen verwendeten Konzentrationen keine Zytotoxizität. Deshalb wurden sie für die weiteren Experimente in einer Konzentration von jeweils 100 $\mu\text{g/ml}$ bei einer Einwirkdauer von 72h verwendet.

Genistein hatte bei einer Konzentration von 100 $\mu\text{g/ml}$ nach 48h und 72h eine große Zahl trypanblaupositiver Zellen. Bei einer Einwirkdauer von 24h trat hingegen keine

Zytotoxizität auf. Wurde es dann entfernt und untersuchte man die Zellen nach weiteren 24h, so waren 50% der Zellen Trypanblau-positiv.

Bei 50µg/ml trat auch nach 72h Inkubation keine Zytotoxizität auf. Auch nach weiteren 24h Inkubation ohne Genistein waren über 90% der Zellen Trypanblau-negativ, so dass diese Konzentration für die weiteren Versuche verwendet wurde.

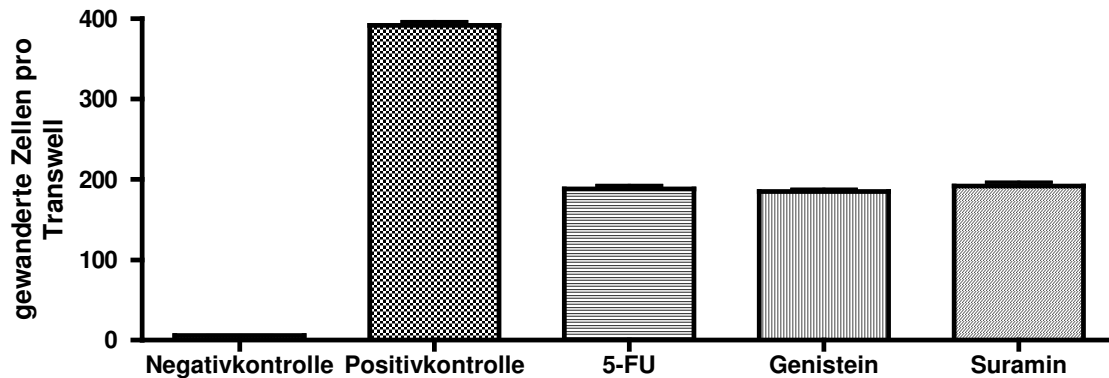
In Bezug auf die Vitalität bestand zwischen den verwendeten Medikamenten kein signifikanter Unterschied.

DMSO wurde als Lösungsmittel für Genistein und 5-FU verwendet. Es lag in den verwendeten Medikamentenlösungen in einer Konzentration von 10 µg/ml vor. Deshalb wurde es ebenfalls auf sein zytotoxisches Potential in der verwendeten Konzentration hin untersucht. Dabei konnte zu keinem Zeitpunkt Zytotoxizität festgestellt werden (Vitalität >90%). Es gab keinen Unterschied zwischen aktivierten und nicht aktivierten Tenonfibroblasten ($p=0,62$).

4.2. Migrationsverhalten im Transwell Assay System

In der Positivkontrolle wanderten durchschnittlich 391,67 +/- 19,82 Zellen. In der Negativkontrolle ohne K20% war der Wanderungseffekt vernachlässigbar gering (5,67 +/- 2,2 Zellen).

Im Vergleich zur Positivkontrolle inhibierten 5-FU, Genistein und Suramin die Migration der Tenonfibroblasten signifikant ($p < 0,0001$). Dabei wanderten bei 5-FU 48,08%, bei Genistein 47,29 % und bei Suramin 49,02% der Zellen, so dass kein signifikanter Unterschied zwischen der Migrationshemmung durch 5-FU und den untersuchten Wachstumsfaktoringhibitoren nachweisbar war ($p = 0,541$). Keines der untersuchten Medikamente war jedoch in der Lage, die Migration vollständig zu unterdrücken (s. Graph1).



Graph1: Migrationsverhalten der Zellen im Transwell-System

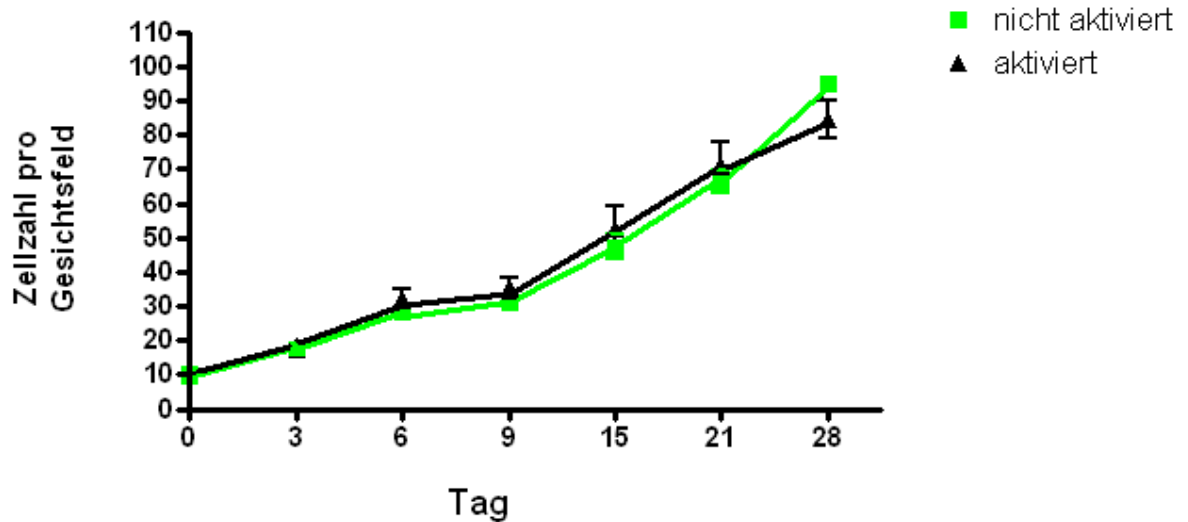
Zwischen der Gruppe der voraktivierten Tenonfibroblasten P4 – P6 und der der nicht-aktivierten Tenonfibroblasten P1 – P3 gab es keinen signifikanten Unterschied, weder in der Positivkontrolle ($p=0,0705$) noch bei den einzelnen Medikamenten ($p=0,6569$).

4.3. Proliferationsverhalten

Nach 24h Adhäsionszeit (Tag 0) befanden sich in jeder Zellkulturflasche $10,54 \pm 2,6$ Zellen pro Gesichtsfeld. Dies entspricht 105.400 ± 26.000 Zellen pro Zellkulturflasche. Zwischen den einzelnen Patienten gab es am Tag 0 keinen signifikanten Unterschied ($p=0,5389$). Ebenso konnte kein Unterschied zwischen der Anheftungstendenz der aktivierten und der nicht-aktivierten Zellen festgestellt werden. Damit bestand für alle Proben die gleiche Ausgangssituation.

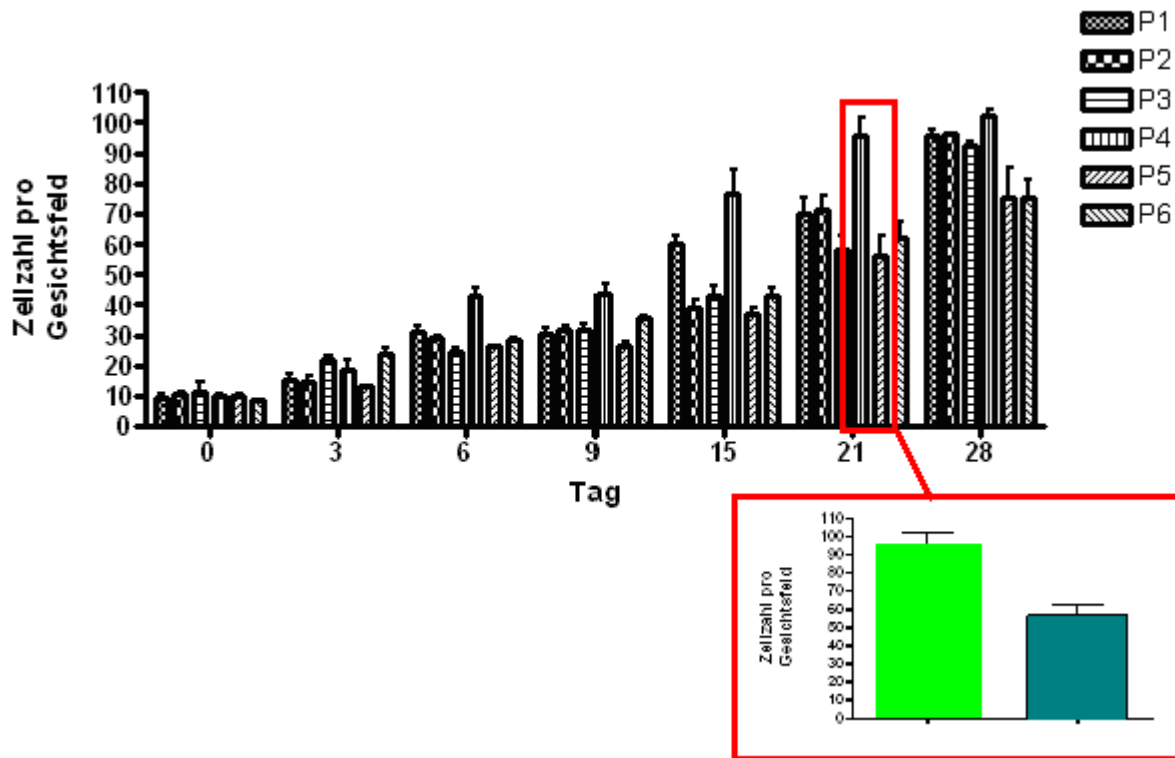
4.3.1. Kontrollgruppe

Die Zellzahl in den Kontrollgruppen nahm während des gesamten Untersuchungszeitraums kontinuierlich zu von $17,88 \pm 4,88$ Zellen an Tag 3 auf $89,56 \pm 12,77$ Zellen an Tag 28. Zwischen der Proliferation in der aktivierten und der nicht-aktivierten Zellpopulation konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,9441$). Es gab allenfalls eine leichte Tendenz zu verstärkter Proliferation in der aktivierten Gruppe (s. Graph2).



Graph2: Vergleich der Proliferation zwischen aktivierten (P1-P3) und nicht-aktivierten Tenonfibroblasten (P4-P6)

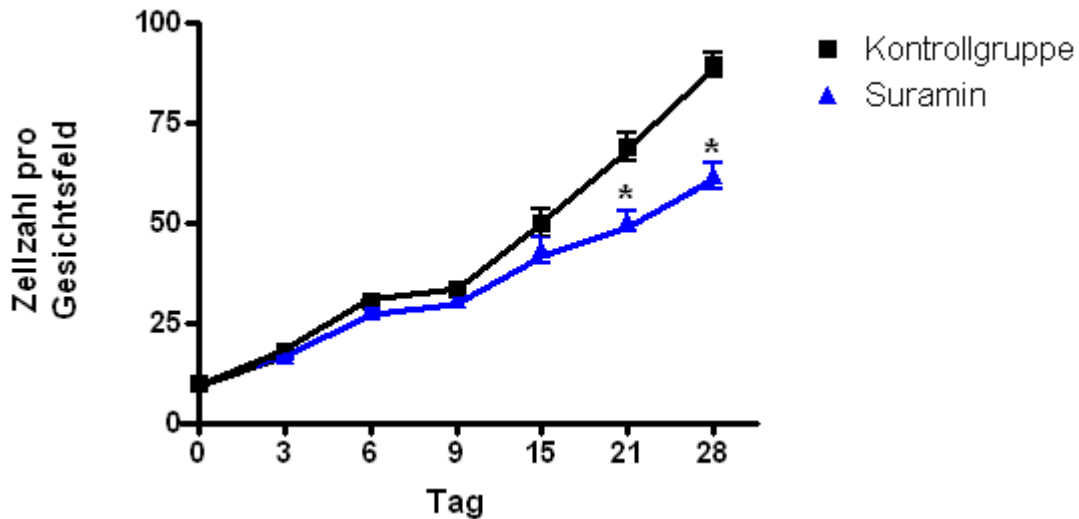
Allerdings proliferierten die einzelnen Zellpopulationen unterschiedlich stark. So lagen an Tag 21 in P4 als der höchstproliferierenden Patientenpopulation dieses Tages 95,53 +/- 10,21 Zellen pro Gesichtsfeld vor, in P5 als der am schlechtesten proliferierenden Zellpopulation 56,27 +/- 10,83 Zellen (p= 0,0008) (s. Graph3).



Graph3: unterschiedliches Proliferationsverhalten in den einzelnen Patientenpopulationen, das ausnahmsweise auch signifikante Niveaus erreichen kann, hier am Beispiel von P4 (hellgrün hervorgehoben) und P5 (dunkelgrün hervorgehoben).

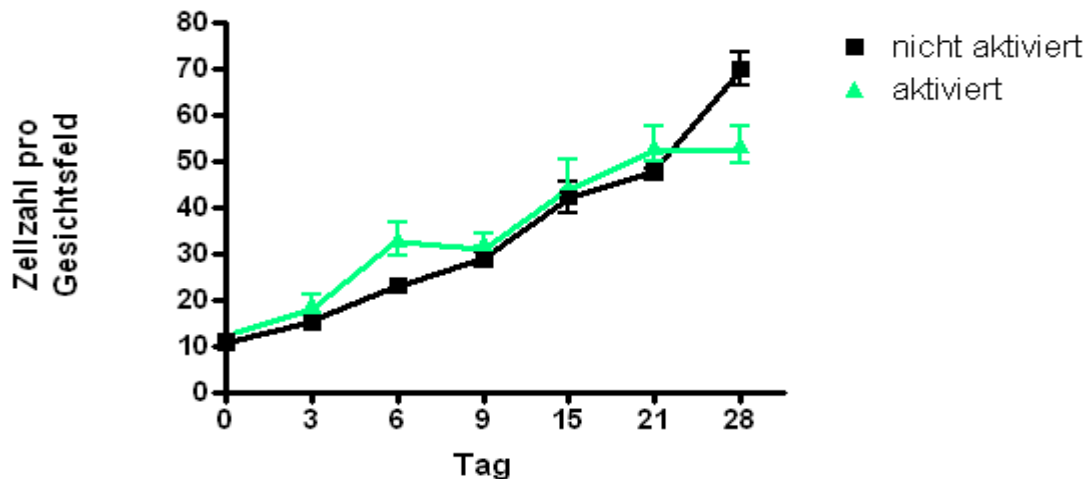
4.3.2. Suramin

Von Tag 3 - 15 war die Zellzahl niedriger als in der Kontrollgruppe (etwa 10% Proliferationsunterschied), jedoch war das Ergebnis nicht statistisch signifikant ($p > 0,001$). An den Tagen 21 und 28 war der Unterschied zur Kontrollgruppe jedoch signifikant ($p < 0,001$). Der Kurvenverlauf war bis zum 15. Tag annähernd parallel zu dem der Kontrollgruppe. Ab dem 15. Untersuchungstag divergierten die beiden Kurven dann deutlich (s. Graph4).

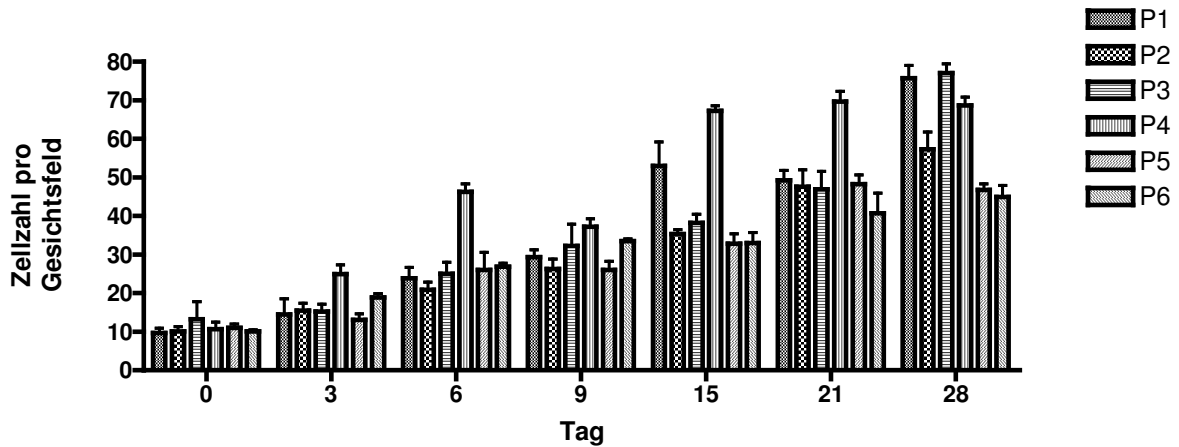


Graph4: Unterschied zwischen Suramin und Kontrollgruppe (* entspricht $p < 0,001$)

Zwischen aktivierten und nicht-aktivierten Tenonfibroblasten gab es keinen signifikanten Unterschied ($p > 0,001$) (s. Graph5), dafür aber zwischen den einzelnen Patientenpopulationen. Diese Unterschiede waren in ihren Tendenzen allerdings mit den Unterschieden vergleichbar, die bereits in der Kontrollgruppe festgestellt wurden (s.Graph6).



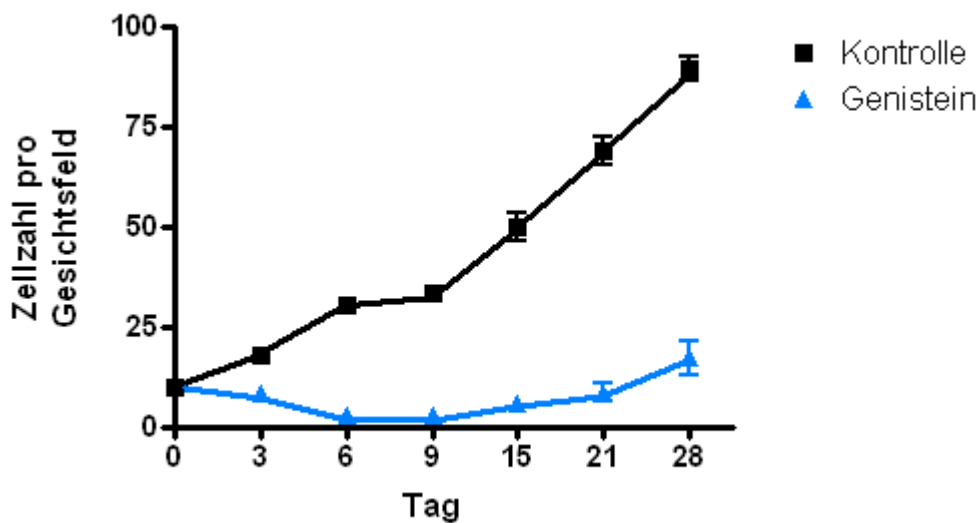
Graph5: Vergleich zwischen aktivierten und nicht-aktivierten Tenonfibroblasten in der Suramingruppe



Graph6: Unterschiede in der Proliferation bei Suramingabe in den einzelnen Patientenpopulationen

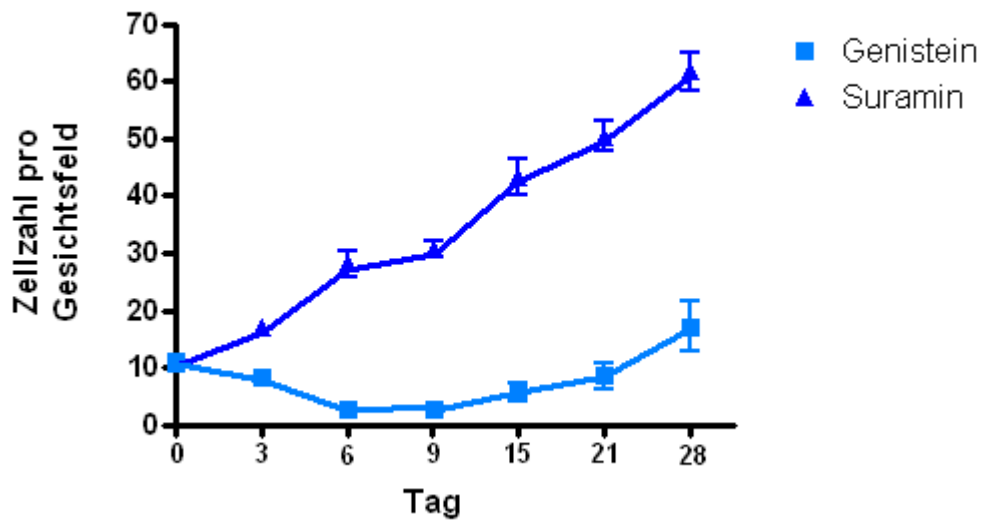
4.3.3. Genistein

Über den gesamten Untersuchungszeitraum fand signifikant weniger Zellproliferation in der Genisteingruppe als in der Kontrollgruppe statt ($p < 0,001$). (s. Graph7).



Graph7: Vergleich der Proliferation zwischen Kontrollgruppe und Genistein

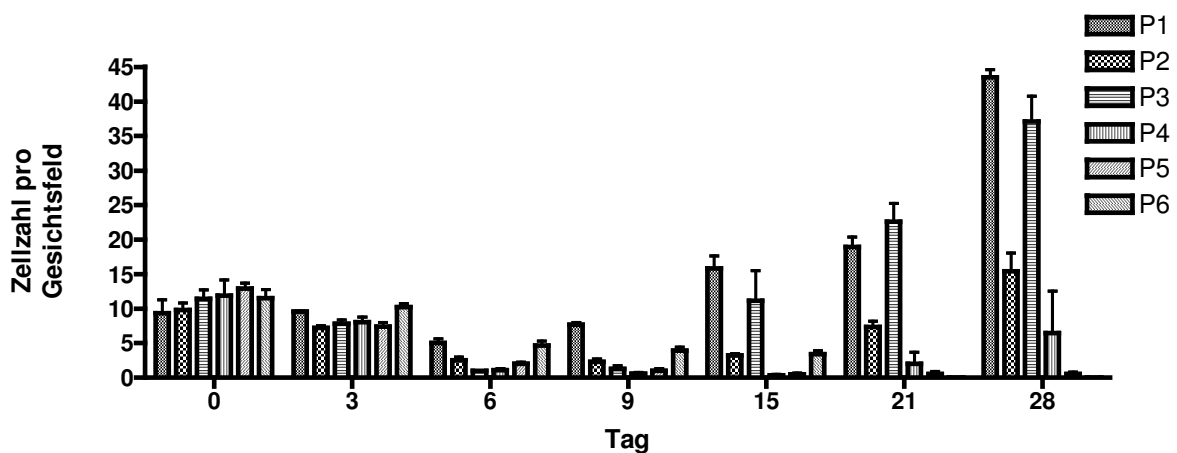
Der Unterschied im Proliferationsverhalten zwischen Suramin und Genistein war zu allen Zeitpunkten signifikant ($p < 0,001$) (s. Graph8).



Graph8: Vergleich der Proliferation zwischen Suramin und Genistein

Festzuhalten bleibt eine leichte Abnahme der Zellzahl an Tag 3 und Tag 6. Ab Tag 9 kam es zu einem leichten Anstieg der Zellzahl, so dass die Genisteinkurve insgesamt einen muldenförmigen Verlauf zeigte.

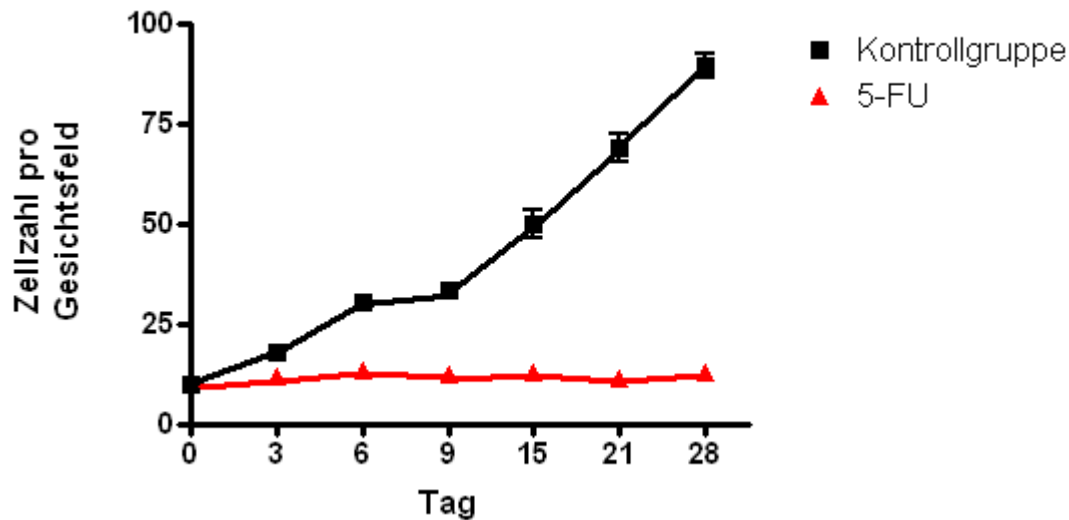
Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen der Gruppe der aktivierten Tenonfibroblasten und der der nicht-aktivierten ($p > 0,001$). Jedoch konnten ab Tag 21 signifikante Unterschiede in der Proliferation der an diesem Tag am stärksten proliferierenden Zellpopulation P3 und den am schwächsten proliferierenden P5 und P6 festgestellt werden ($p < 0,0001$) (s.Graph9).



Graph9: Unterschiede in der Proliferation bei Genisteingabe in den einzelnen Patientenpopulationen

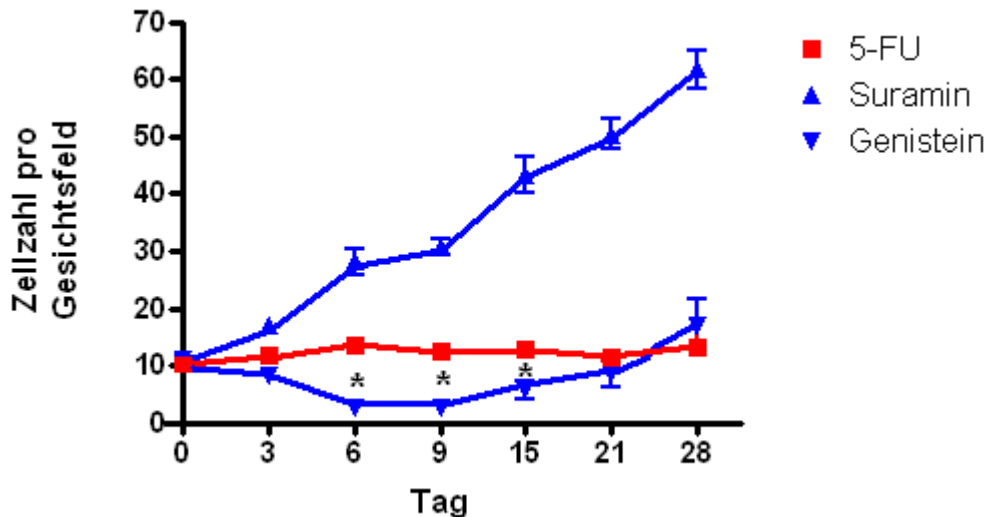
4.3.4. 5-FU

Die Zellproliferation in der mit 5-FU behandelten Gruppe war über den ganzen Untersuchungszeitraum signifikant geringer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,001$). Dabei lag der 5-FU-Wert konstant an allen Untersuchungstagen zwischen 10 und 13 Zellen pro Gesichtsfeld. Der Kurvenverlauf war annähernd horizontal (s. Graph10).



Graph10: Vergleich der Proliferation zwischen Kontrollgruppe und 5-FU

Zwischen 5-FU und Suramin war der Unterschied zu allen Untersuchungszeitpunkten signifikant ($p > 0,001$). Im Vergleich zu Genistein waren die Zellzahlen von Tag 6 bis 15 signifikant unterschiedlich ($p < 0,001$) bei einer geringeren Proliferation in der Genisteingruppe. Zu den anderen Untersuchungszeitpunkten gab es keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,001$) (s. Graph11).



Graph11: Vergleich der Proliferation zwischen 5-FU, Suramin und Genistein (* entspricht $p < 0,001$)

Zwischen aktivierten und nicht-aktivierten Tenonfibroblasten gab es keinen signifikanten Unterschied ($p > 0,001$). Ebenso proliferierten alle Zellpopulationen ohne signifikante Unterschiede ($p > 0,001$).

4.4. Fibronectin-ELISA

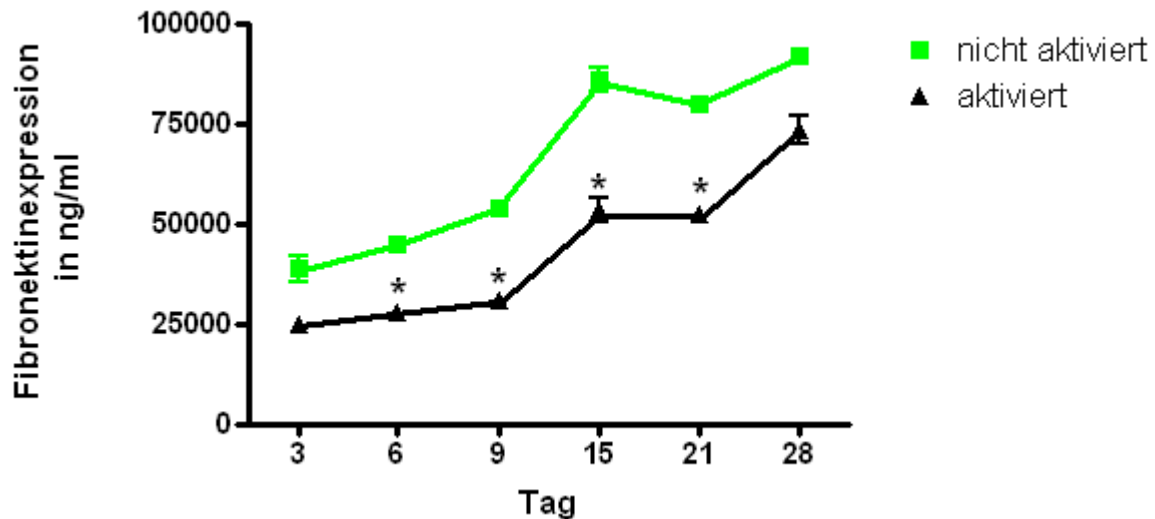
4.4.1. Vorversuch

Die basale Fibronectinproduktion lag in konditioniertem Medium ohne Zugabe von FCS nach 24h bei ca. 30 ng/ml. In den verwendeten FCS-Chargen wurden im ELISA bei einer 10%igen FCS-Konzentration 270 ng/ml nachgewiesen. Um die Unterschiede zwischen den einzelnen Patientenpopulationen und Medikamenten deutlicher aufzeigen zu können wurde daher zu jedem Untersuchungszeitpunkt der gesammelte Überstand verwendet.

4.4.2. Kontrollgruppe

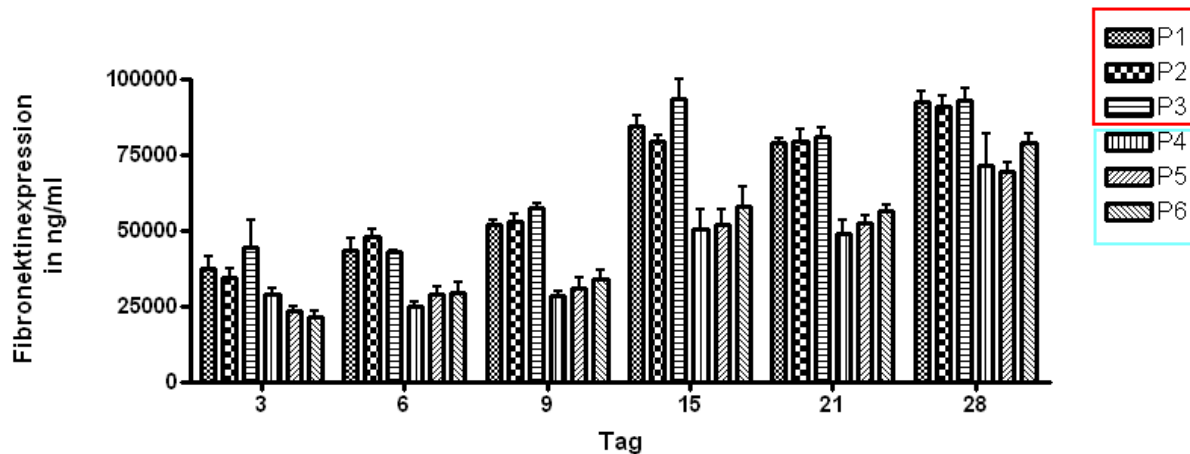
In der Kontrollgruppe kam es zu einem kontinuierlichen Anstieg in der Fibronectinexpression über die gesamte Untersuchungszeit von 31.629,25 +/- 10.426,437 ng/ml an Tag 3 auf 82.584,81 +/- 12.624,45 ng/ml an Tag 28.

Der Unterschied zwischen aktivierten und nicht aktivierten Tenonfibroblasten war signifikant an den Tagen 6,9,15 und 21 ($p < 0,001$), jedoch an Tag 3 und 28 nicht. Wobei mehr Fibronektin in der nicht-aktivierten Gruppe produziert wurde (s. Graph12).



Graph12: Vergleich der Fibronektinexpression zwischen aktivierten und nicht-aktivierten Tenonfibroblasten (* entspricht $p < 0,001$)

Diese signifikanten Unterschiede zeigten sich auch bei den einzelnen Patientenpopulationen (s. Graph13).

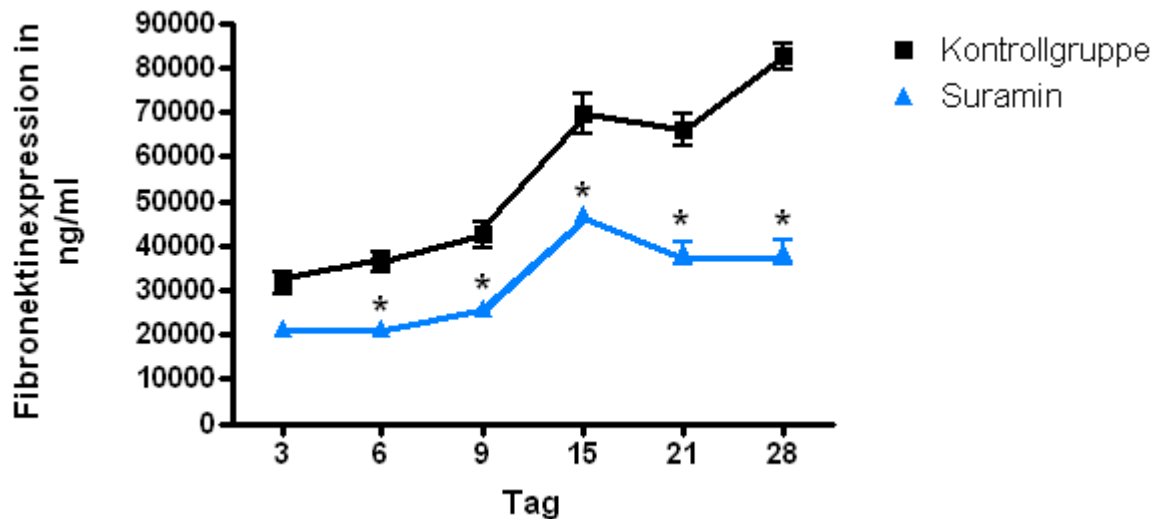


Graph13: Vergleich der Fibronektinexpression zwischen den einzelnen Patientenpopulationen

4.4.3. Suramin

An Tag 3 gab es keinen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe ($p = 0,009$). Von Tag 6 bis 28 bestand ein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe ($p < 0,001$). Zwar erfolgte ein kontinuierlicher Anstieg der Fibronektinproduktion in der mit Suramin

behandelten Gruppe von Tag 3 bis 28, aber in geringerem Ausmaß als in der Kontrollgruppe (von 21.640 +/- 5.291,7 ng/ml auf 38.607 +/- 10.959 ng/ml und damit 46,75% der Kontrollgruppe). Der Verlauf von Kontrollgruppe und Suramingruppe verlief bis zum Tag 15 annähernd parallel, danach verliefen beide Kurven deutlich divergent (s. Graph14).

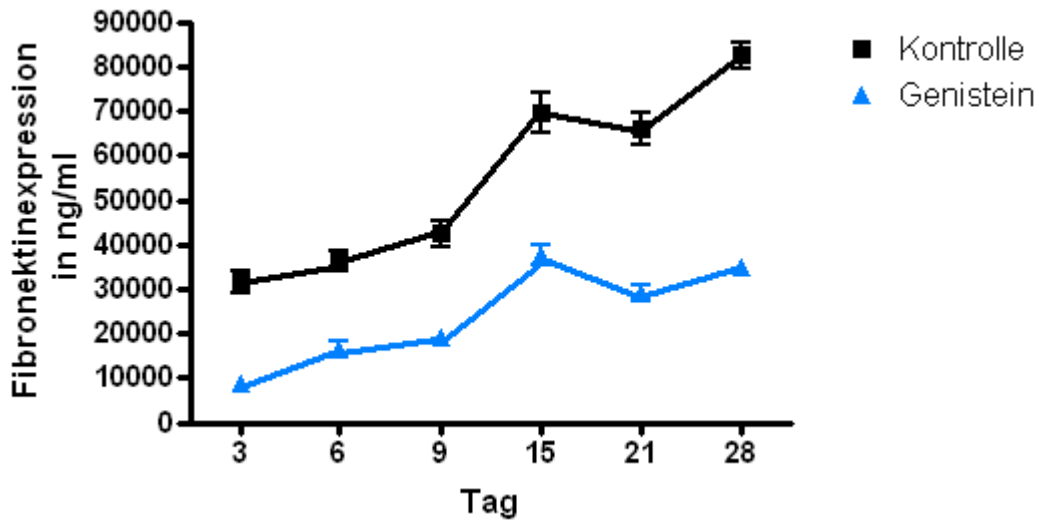


Graph14: Vergleich der Fibronectinexpression zwischen Kontrollgruppe und Suramin (* entspricht $p < 0,001$)

Weder zwischen den aktivierten und den nicht-aktivierten Tenonfibroblasten, noch zwischen den einzelnen Zellpopulationen bestand ein signifikanter Unterschied ($p > 0,001$).

4.4.4. Genistein

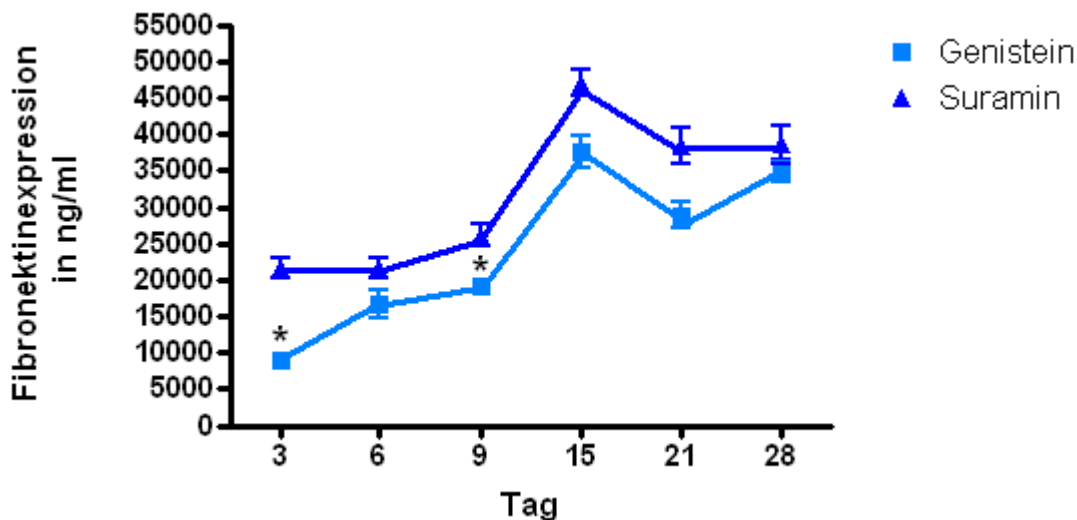
Die Fibronectinexpression war in der mit Genistein behandelten Gruppe von Tag 3 bis 28 durchgängig signifikant vermindert ($p < 0,001$). Der Expressionsverlauf war annähernd parallel zur Kontrollgruppe (s. Graph15).



Graph15: Vergleich der Fibronectinexpression zwischen Kontrollgruppe und Genistein

Weder zwischen der aktivierten und der nicht-aktivierten Gruppe, noch bei den einzelnen Zellpopulationen kam es zu signifikanten Unterschieden ($p > 0,001$).

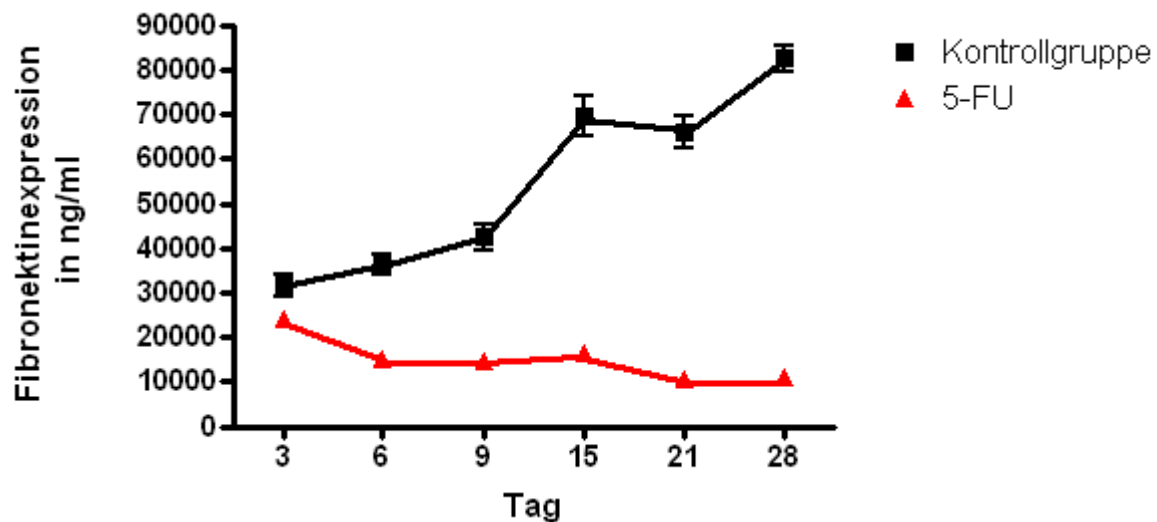
An Tag 3 und 9 exprimierte die mit Genistein behandelte Gruppe signifikant weniger Fibronectin als Suramin ($p=0,0006$), an den anderen Untersuchungstagen war der Unterschied nicht signifikant ($p > 0,001$), allerdings lag in der Genisteingruppe eine Tendenz zu verminderter Expression im Vergleich zu Suramin vor (s. Graph16).



Graph16: Vergleich der Fibronectinexpression zwischen Genistein und Suramin (* entspricht $p < 0,001$)

4.4.5. 5-FU

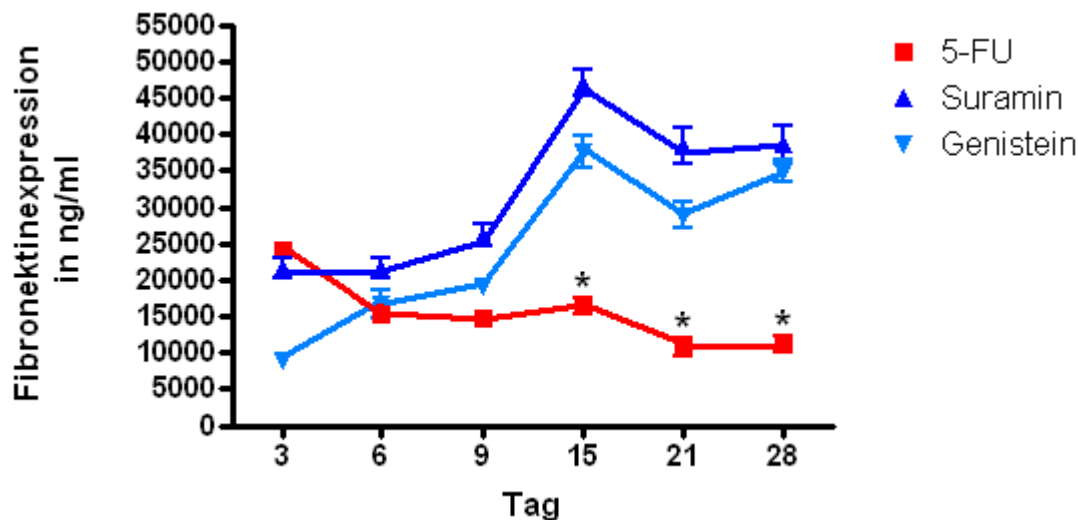
Bei 5-FU-Behandlung wird von Tag 6 bis 28 signifikant weniger Fibronektin als in der Kontrollgruppe exprimiert ($p < 0,001$). Die Fibronektinexpression sank von Tag 3 bis 9 von 24.023 ± 3.721 ng/ml auf 14.801 ± 4.278 ng/ml, stieg dann bis Tag 15 leicht an, um bis Tag 28 wieder kontinuierlich abzufallen. Der Expressionsverlauf war daher nicht parallel zur Kontrollgruppe, sondern zeigte eher eine stufenweise Expressionsverringerung an Fibronektin seitens des 5-FU (s. Graph17).



Graph17: Vergleich der Fibronektinexpression zwischen Kontrollgruppe und 5-FU

Weder zwischen der aktivierten und der nicht-aktivierten Gruppe, noch zwischen den einzelnen Zellpopulationen bestand ein signifikanter Unterschied ($p > 0,001$).

Die mit Suramin behandelte Gruppe exprimiert von Tag 9 bis 28 signifikant mehr Fibronektin als 5-FU ($p < 0,001$). An Tag 3 bildete die mit Genistein behandelte Gruppe signifikant weniger Fibronektin als 5-FU ($p < 0,0001$). Dieser Unterschied verschwand an Tag 6 und 9 ($p = 0,51$ bzw. $p = 0,02$). Ab Tag 15 war die Fibronektinexpression durch 5-FU signifikant besser gehemmt als durch Genistein ($p < 0,0001$) (s. Graph18).



Graph18: Vergleich der Fibronectinexpression zwischen 5-FU, Suramin und Genistein (* entspricht $p < 0,001$)

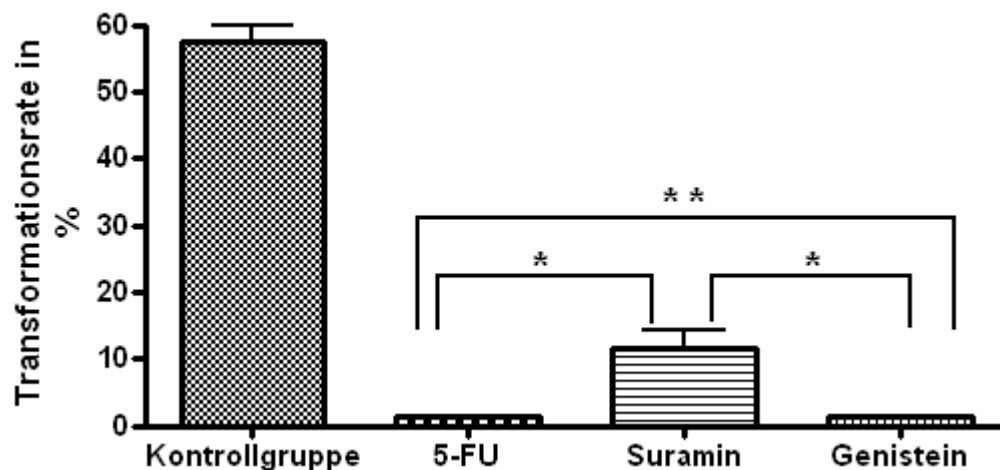
4.5. Immunocytochemie zum Nachweis der Transformation von Tenonfibroblasten in Myofibroblasten

Für die Versuche wurden die vorhandenen Medikamentenlösungen mit 2ng/ml TGF β -1 supplementiert. In der Kontrollgruppe ohne Zugabe von TGF β -1 wurden maximal 10% der Zellen umgewandelt. Der Unterschied zur TGF β -supplementierten Gruppe war signifikant ($p < 0,008$).

Pro Gesichtsfeld wurden bei 20facher Vergrößerung im Durchschnitt 77,22 \pm 11,33 Zellen gezählt. In der Kontrollgruppe lag die Transformationsrate bei 57,42 \pm 10,14%. Zwischen aktivierten und nicht-aktivierten Tenonfibroblasten war kein signifikanter Unterschied feststellbar ($p = 0,5061$). Die Unterschiede zwischen Kontrollgruppe und untersuchten Medikamenten waren hingegen signifikant ($p < 0,0001$).

In der Suramingruppe lag die Transformationsrate bei 11,62 \pm 11,6%. Diese hohe Standardabweichung ergibt sich aus der Tatsache, dass in einigen Zellpopulationen 20% der Zellen transformierten, in anderen nur 1,5%. Diese große Varianz lag zwischen einzelnen Patienten vor, jedoch unabhängig davon, ob sie zur aktivierten oder zur nicht-aktivierten Gruppe gehörten.

Zwischen Suramin und Genistein sowie Suramin und 5-FU bestand ein signifikanter Unterschied (jeweils $p=0,0015$) wobei Genistein und 5-FU eine geringere Transformationsrate als Suramin aufwiesen. Zwischen 5-FU und Genistein gab es keinen signifikanten Unterschied ($p=0,5138$). In keiner medikamentös behandelten Gruppe konnte die Transformation vollständig unterdrückt werden (s. Graph19).



Graph19: Unterschiedliche Transformationsmuster in den einzelnen untersuchten Gruppen (* entspricht $p=0,0015$; ** entspricht $p=0,5138$)

4.6. Photographische Dokumentation der Tenonfibroblasten in den einzelnen Versuchen

4.6.1. Proliferationsverhalten der Tenonfibroblasten

In einer direkten Gegenüberstellung der Proliferationsbilder an Tag 3, 15 und 28 zeigt sich ein verändertes Proliferationsverhalten in den einzelnen Gruppen. Diese Unterschiede sind am dritten Tag, also zum Zeitpunkt der Entfernung der Medikamente, noch in keiner der Gruppen feststellbar. Bis zum Tag 15 können sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Suramingruppe Proliferationstendenzen entdeckt werden (s. Abb.10 und 11). Am Tag 28 wachsen die Zellen in der Kontrollgruppe in einigen Bereichen der Kulturflasche entlang einer virtuellen Linie. Es ergibt sich das Bild eines „Fischschwarms“, bestehend aus einzelnen Zellen, die alle in die selbe Richtung tendieren und mit ihren Zellfortsätzen auf dieser gedachten Linie ausgerichtet sind (s.

Abb.10). Dieses Muster wird in dieser reinen Form nur in der Kontrollgruppe erreicht. Ein ähnliches Muster, jedoch mit einem insgesamt lockeren Erscheinungsbild kann in der Suramingruppe am Tag 28 beobachtet werden (s. Abb.11). Hingegen erscheinen die Zellmuster in der Genistein- und der 5-FU-Gruppe ungeordnet (s.Abb.12 und 13). Es gab keinen Unterschied zwischen aktivierten und nicht-aktivierten Tenonfibroblastengruppen.

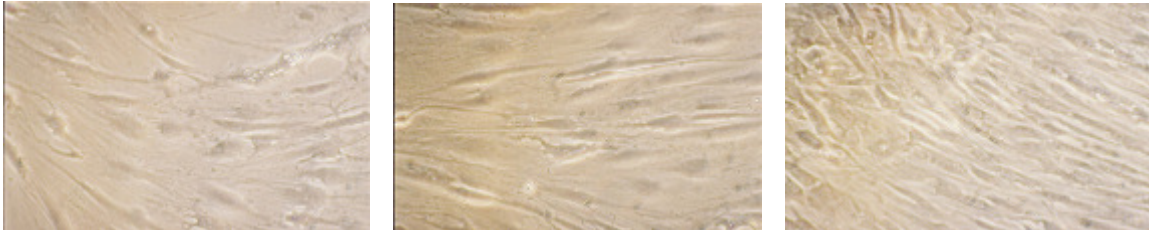


Abb.10: Proliferationsverhalten der Kontrollgruppe von P2 an Tag 3 (links), 15 (Mitte) und 28 (rechts), 400fache Vergrößerung

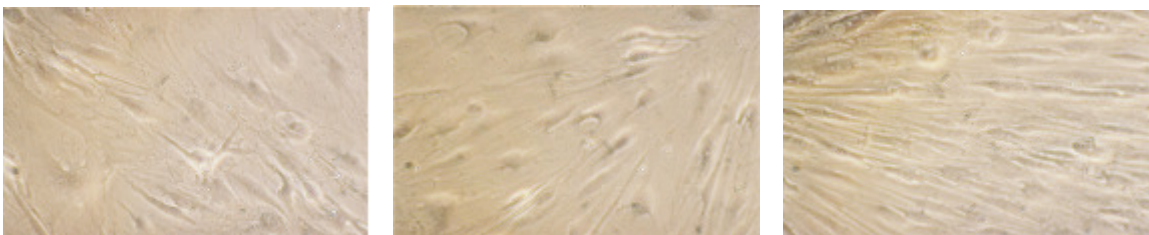


Abb.11: Proliferationsverhalten der Suramingruppe von P2 an Tag 3 (links), 15 (Mitte) und 28 (rechts), 400fache Vergrößerung

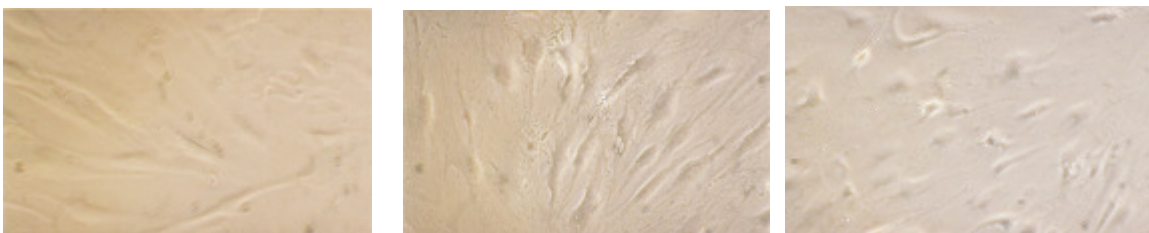


Abb.12: Proliferationsverhalten der 5-FU-Gruppe von P4 an Tag 3 (links), 15 (Mitte) und 28 (rechts), 400fache Vergrößerung

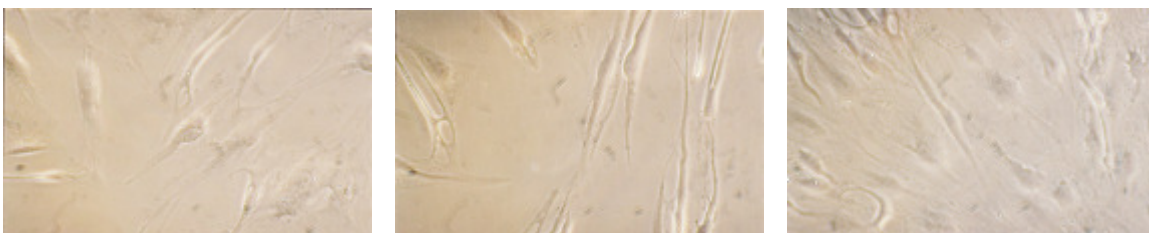


Abb.13: Proliferationsverhalten der Genistein-Gruppe von P2 an Tag 3 (links), 15 (Mitte) und 28 (rechts), 400fache Vergrößerung

4.6.2. Zellmorphologie der Tenonfibroblasten im Proliferationsversuch

Im mikroskopischen Bild der Kontrollgruppe traten sternförmige Zellen mit plattem Zelleib und elliptischem Zellkern auf. Ihre Zytoplasmafortsätze waren breit. Im Zytoplasma selbst war Ergastoplasma erkennbar. Insgesamt entsprachen diese Zellen dem Bild eines Fibroblasten (s. Abb.14). Daneben gab es in den Kontrollgruppen spindelförmige Zellen, die am ehesten an Fibrozyten erinnerten (s. Abb.15). Beide Formen bestanden in einer Zellkulturflasche nebeneinander. Das gleiche Erscheinungsbild lag in den mit Suramin oder Genistein behandelten Zellpopulationen vor. In der mit 5-FU behandelten Population stellten sich die Zellen anders dar. Sie wirkten verdickt und abgerundet, ihre Zytoplasmafortsätze waren schmaler und erschienen verästelt. Die Zellen wirkten durchgehend kleiner als in der Kontrollgruppe (s. Abb.16). Zwischen aktivierten und nicht-aktivierten Zellpopulationen bestand dagegen kein erkennbarer Unterschied.

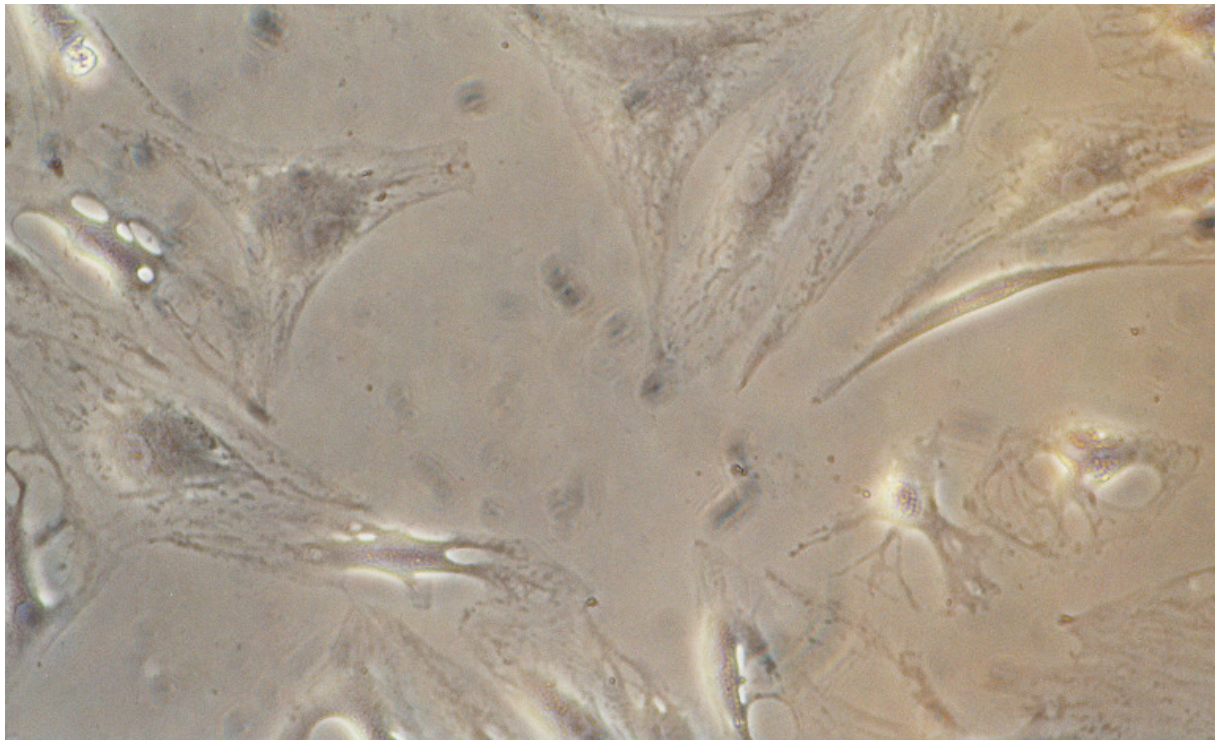


Abb.14: Tenonfibroblastenpopulation der Kontrollgruppe von P1 bei 800facher Vergrößerung

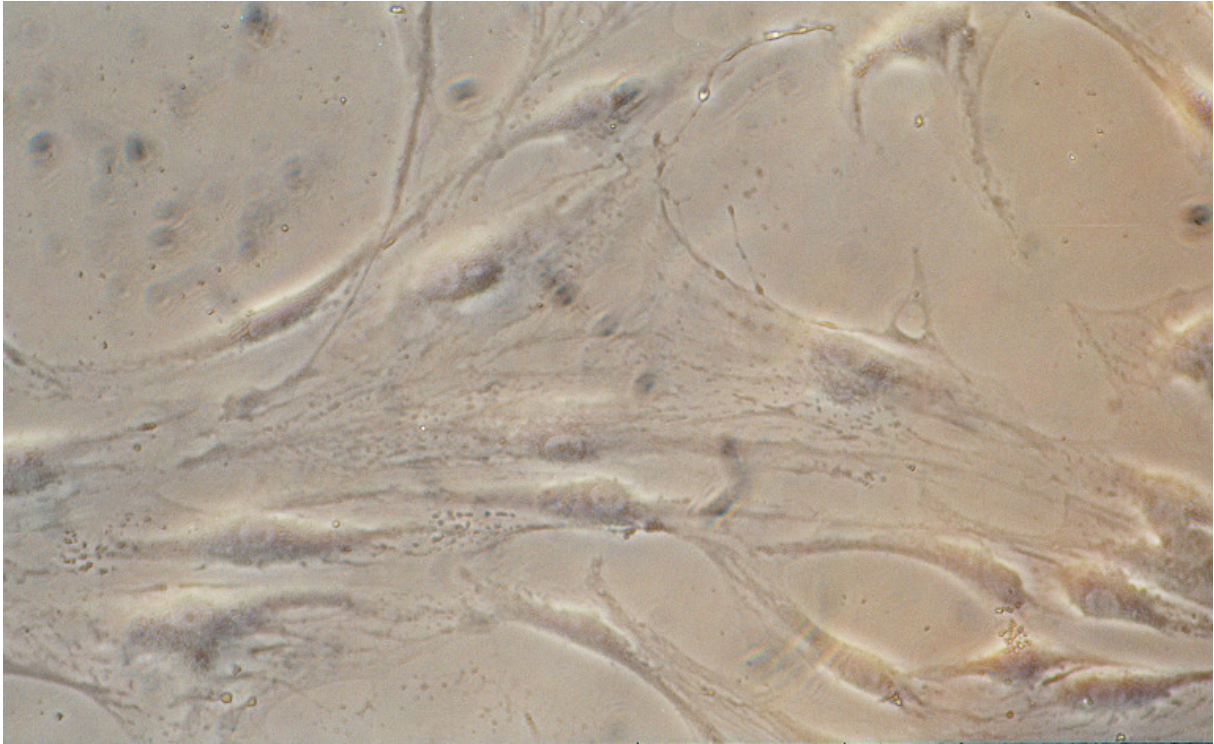


Abb.15: Tenonfibroblastenpopulation der Kontrollgruppe von P2 bei 800facher Vergrößerung

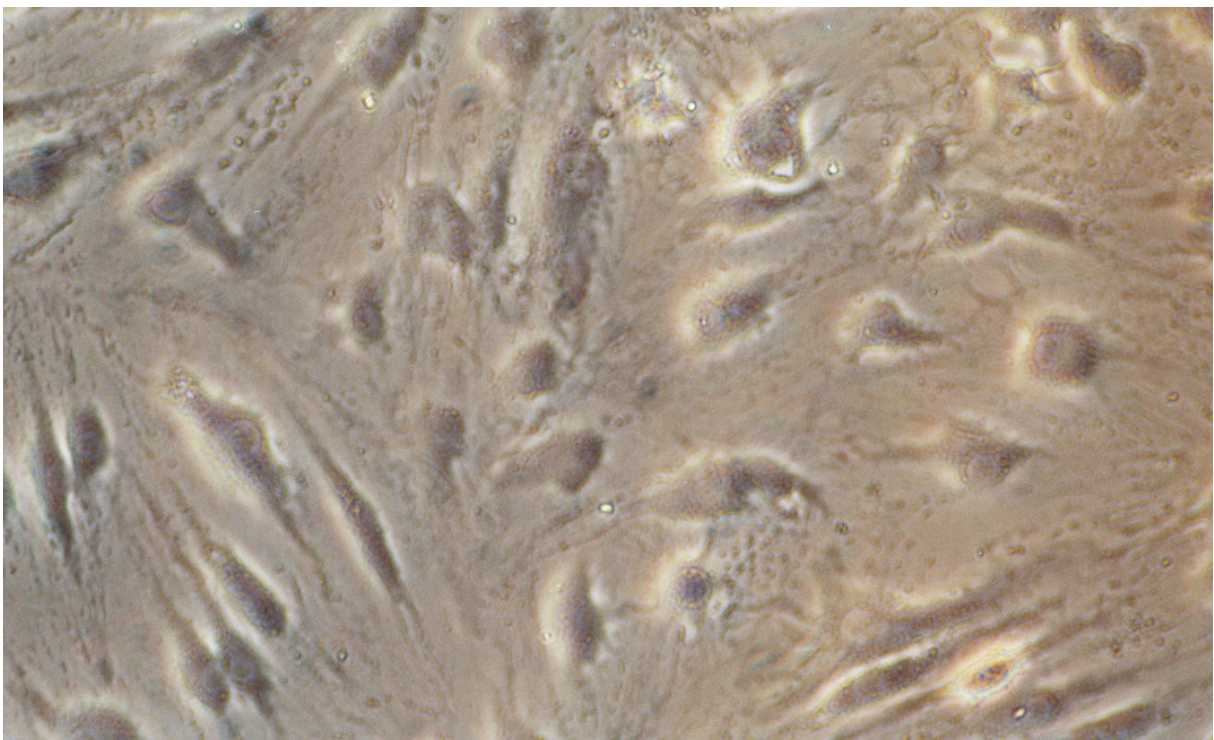


Abb.16: Tenonfibroblasten der 5-FU-Zellpopulation von P3 bei 800facher Vergrößerung

4.6.3. Transwellbilder

Insgesamt wanderte nur eine geringe Zellzahl. Dadurch waren die Unterschiede in der Zellmorphologie der jeweiligen Gruppen nur gering ausgeprägt. Sowohl in den mit 5-FU behandelten Gruppen (s. Abb.18) als auch in allen anderen Zellpopulationen (s. Abb. 17) fanden sich sternförmige Zellen mit schmalen Zytoplasmafortsätzen. Diese wirkten jedoch in der mit 5-FU behandelten Gruppe zahlreicher. Zwischen aktivierten und nicht-aktivierten Patientengruppen konnte kein morphologischer Unterschied festgestellt werden.

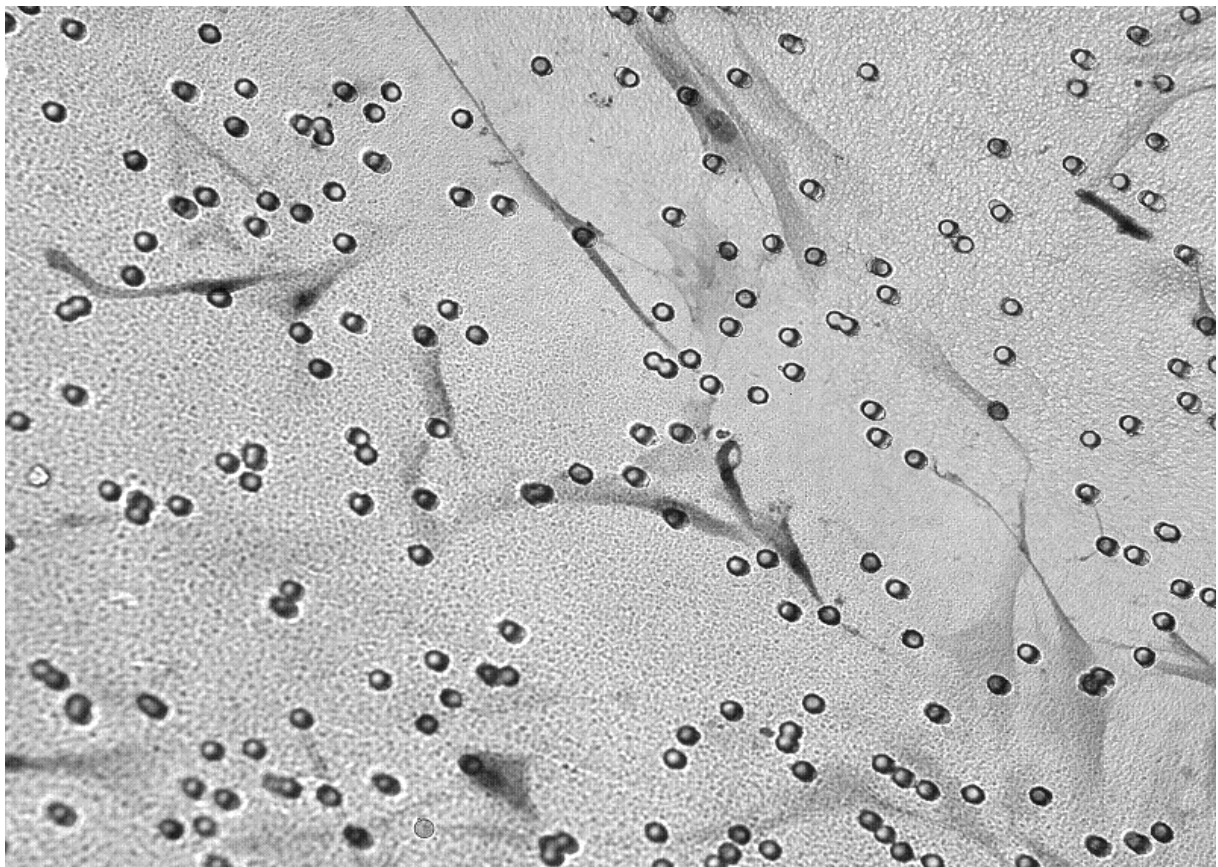


Abb.17: Transwellbild der Kontrollgruppe von P3 bei 400facher Vergrößerung

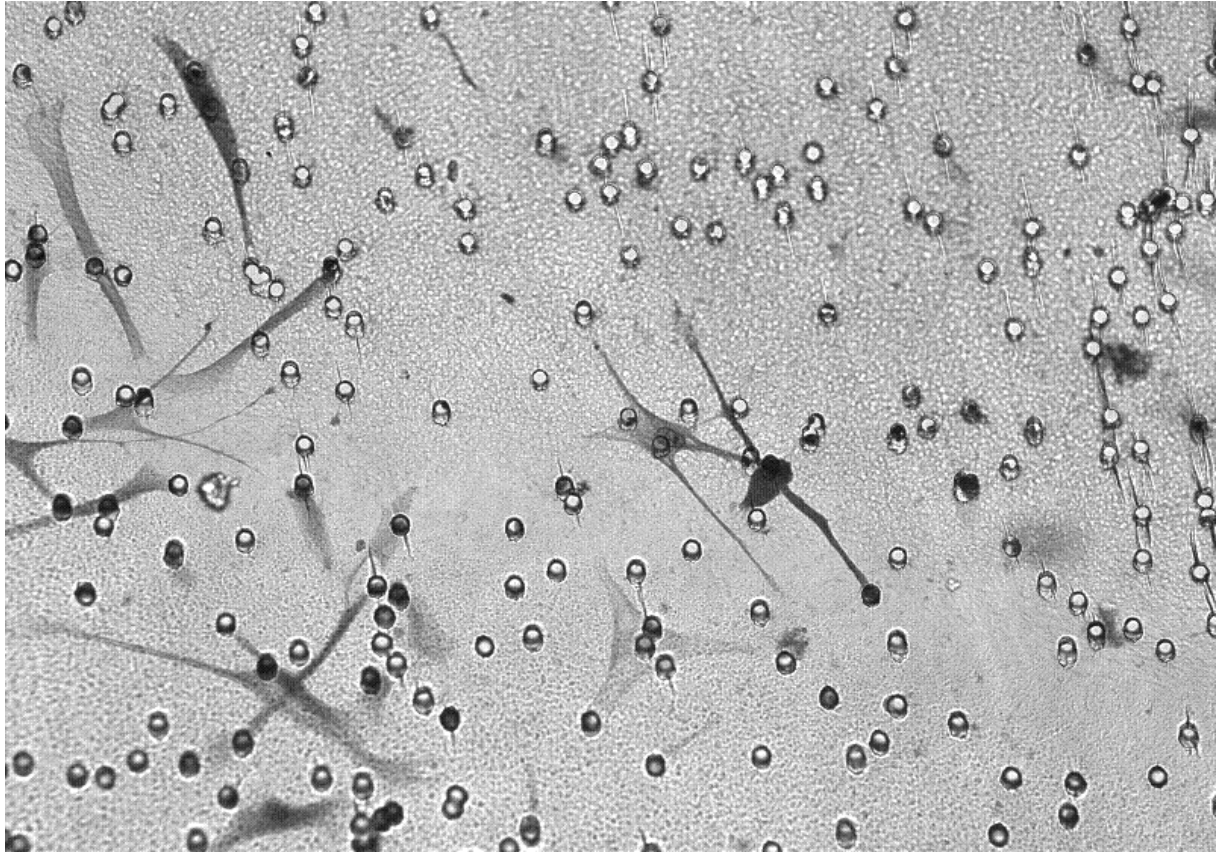


Abb.18: Transwellbild der mit 5-FU behandelten Medikamentengruppe von P4 bei 400facher Vergrößerung

4.6.4. Zellmorphologie der Transwellfibroblasten

Bei einer 1.000fachen Vergrößerung in Ölimmersion konnten drei unterschiedliche Zellpopulationen festgestellt werden. Der vorherrschende Typ war der einer sternförmigen Zelle mit Zytoplasmfortsätzen, die distal des Zellkörpers nicht mehr von der Färbung erfasst werden (s. Abb.19). Daneben gab es spindelförmige Zelltypen, die vom Erscheinungsbild her Fibrozyten und damit ruhenden Fibroblasten am ehesten entsprechen. Ein dreidimensionales Geflecht mit anderen Fibrozyten konnte nicht entdeckt werden. Die Spindelenden wirkten abgeplattet. (s. Abb.20). Diese Zelltypen kamen in allen untersuchten Gruppen vor. Daneben gab es in der 5-FU-Gruppe morphologisch einen dritten Zelltyp, der insgesamt gedrängter und gerundeter wirkte und der nur bei der 1.000fachen Vergrößerung sicher differenziert werden konnte (s. Abb.21).

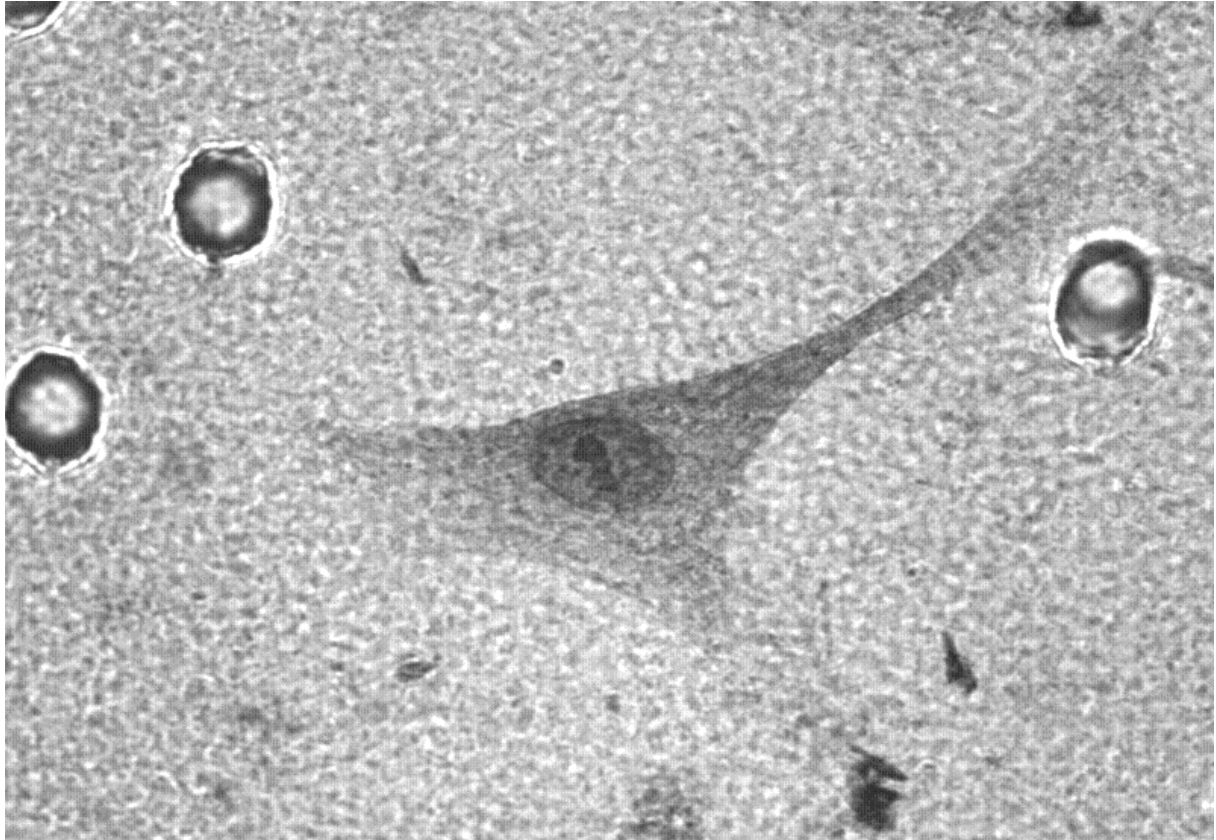


Abb.19: sternförmige Zelle, Vergrößerung 1.000fach, Kontrollgruppe von P1

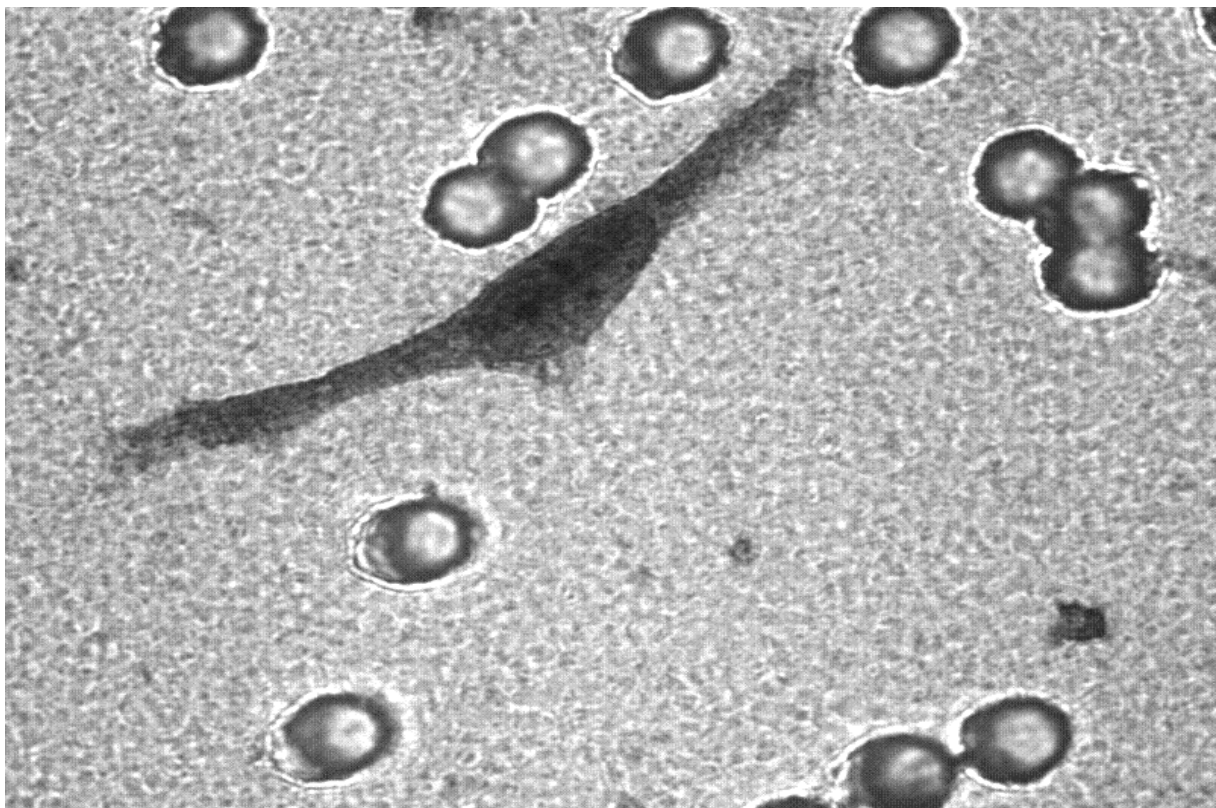


Abb. 20:spindelförmiger Zelltyp, Vergrößerung 1.000fach, Genisteingruppe von P1

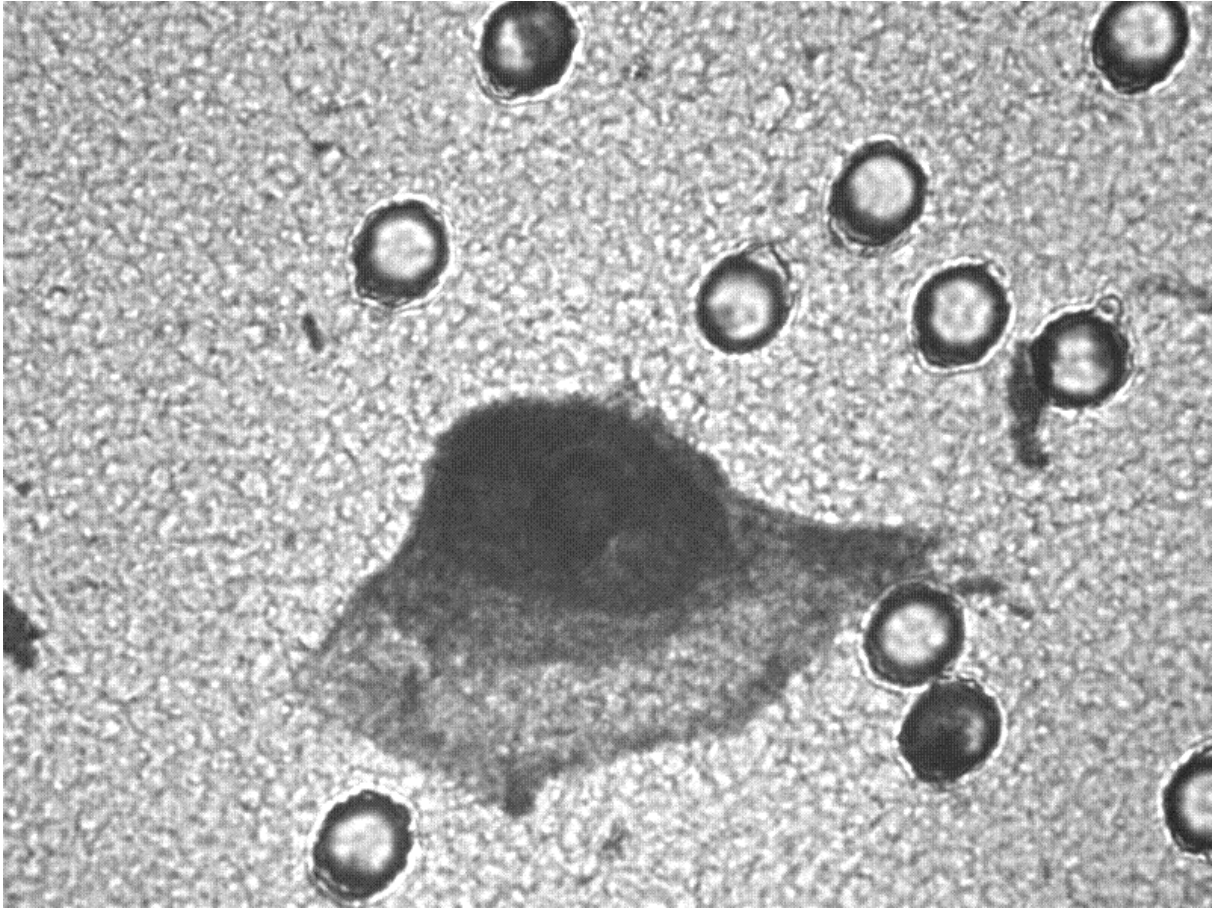


Abb.21: abgeplatteter Zelltyp, Vergrößerung 1.000fach, 5-FU-Gruppe von P4

4.6.5. Immunzytochemie

In der Immunzytochemie zeigte sich angefärbtes α -SMA als strangförmige Struktur, die den gesamten Zelleib durchspannte. In der Regel waren mehrere benachbarte Zellen α -SMA-positiv. Damit lagen in jeder Zellkultur Transformationszentren neben transformationsfreien Arealen vor, so dass sich ein insgesamt uneinheitliches Bild ergab. In der Kontrollgruppe (s. Abb. 22) und den Gruppen der verwendeten Medikamente Genistein (s. Abb. 23) und Suramin (s. Abb.24) erschienen die α -SMA-Stränge nach einer Richtung orientiert. Bei 5-FU erschienen die α -SMA-Stränge ungeordneter und weniger richtungsorientiert mit vereinzelt Verklumpungen (s.Abb.25). Zwischen aktivierten und nicht-aktivierten Tenonfibroblastenpopulationen konnte kein Unterschied festgestellt werden.

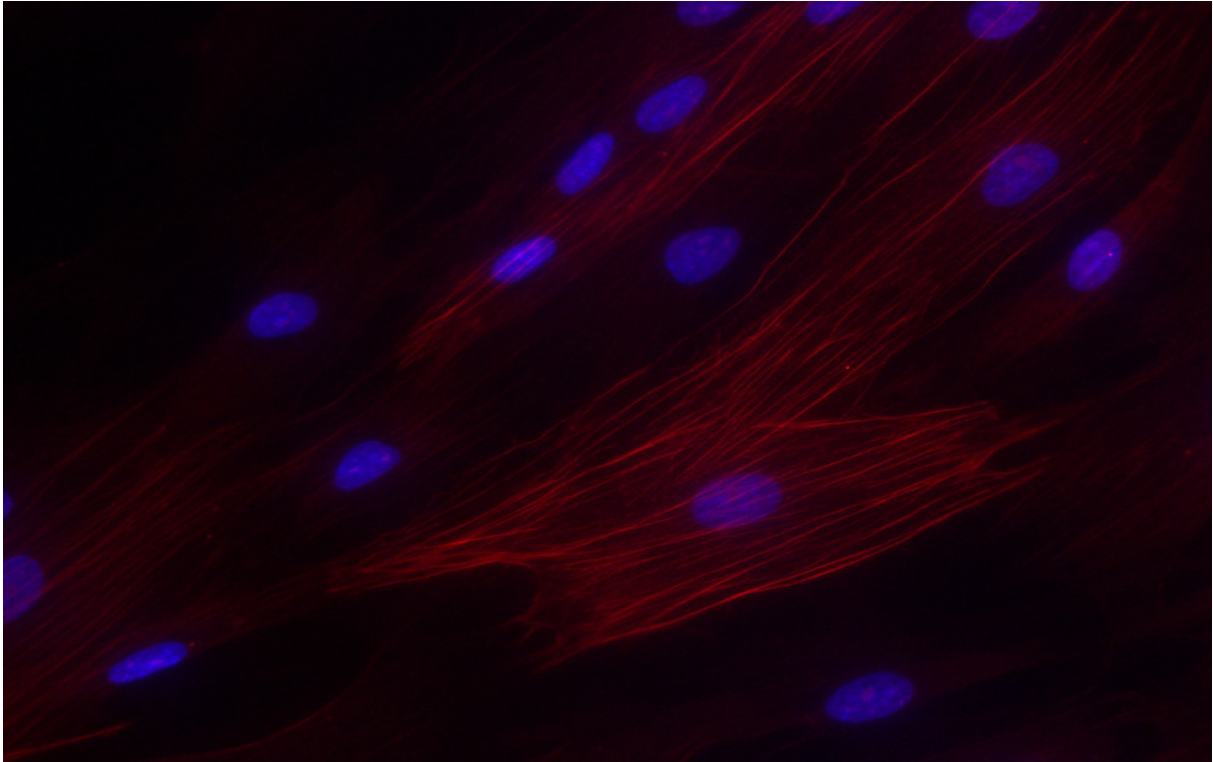


Abb.22: Kontrollgruppe von P6 bei 800facher Vergrößerung; Zellkerne blau angefärbt, α -SMA-Moleküle imponieren als rote fibrilläre Strukturen, die die Struktur des Zelleibs erahnen lassen

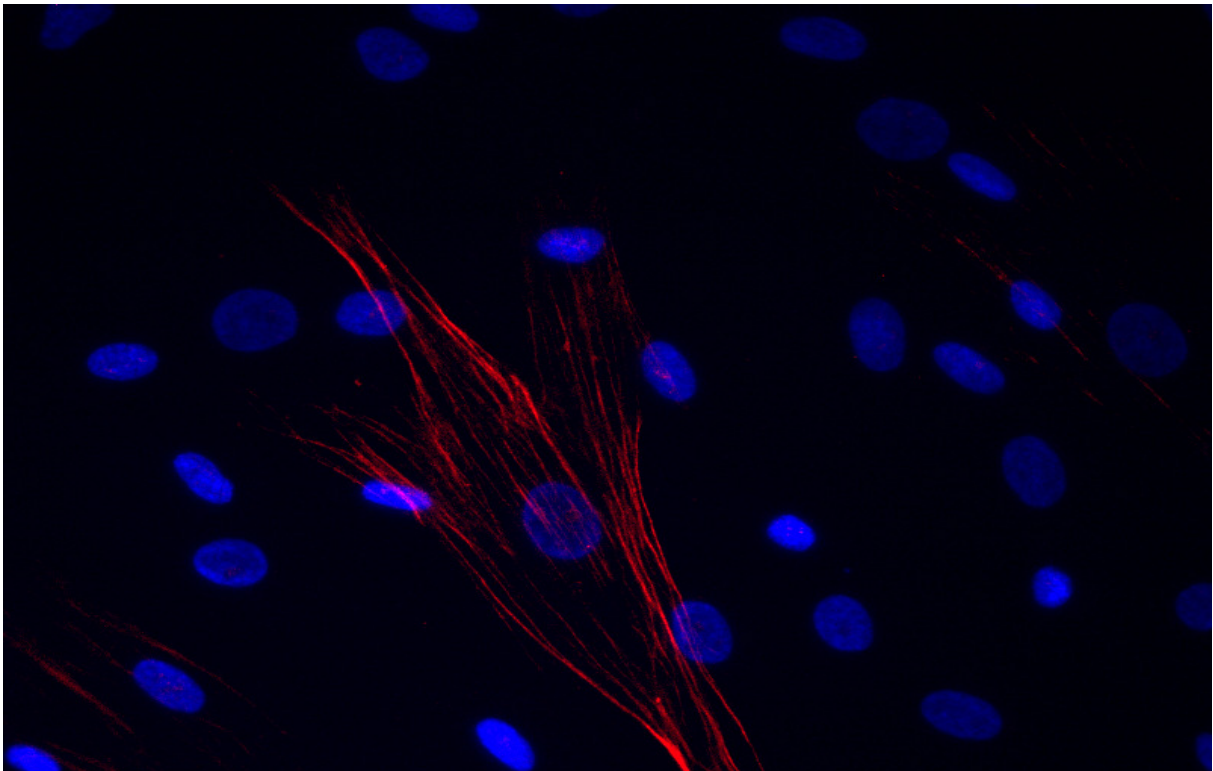


Abb.23: Genisteingruppe von P2, Vergrößerung 800fach (Zellkerne blau, α -SMA rot)

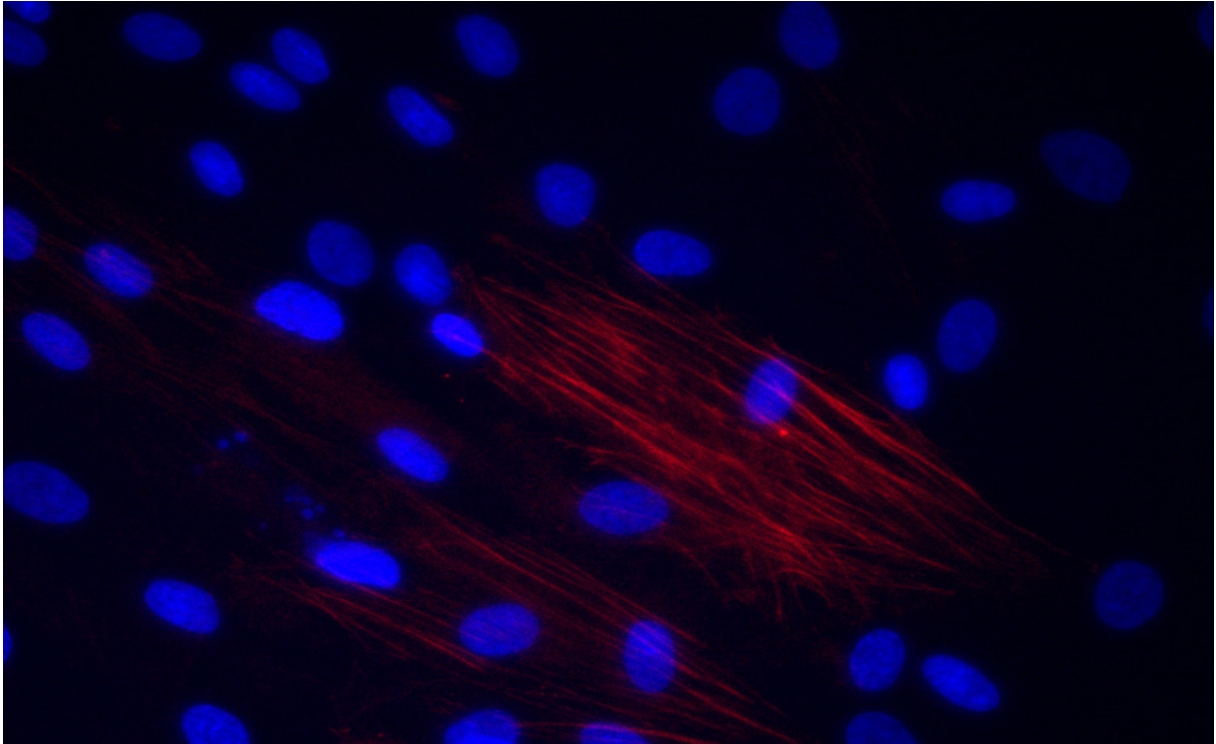


Abb.24: Suramingruppe von P6, Vergrößerung 800fach (Zellkerne blau, α -SMA rot)

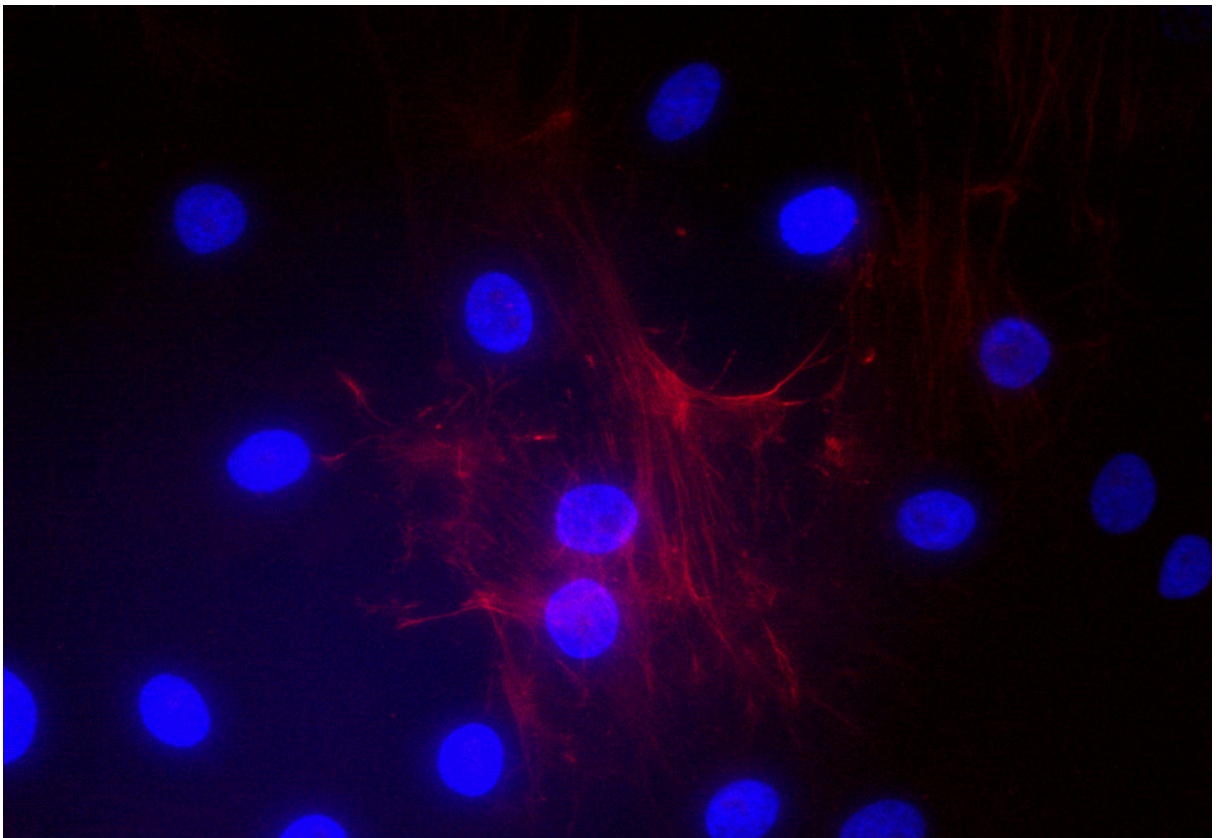


Abb. 25: 5-FU-Gruppe P1, Vergrößerung 800fach, Zellkerne blau, α -SMA rot, eine genaue Zuordnung der α -SMA-Fibrillen zu einzelnen Zellkernen ist nicht immer möglich