

## 1. Einleitung

Angiogenese ist die Neubildung von Blutgefäßen durch Sprossung von Kapillaren aus bereits bestehenden Gefäßen (Folkman, 1984). Physiologischerweise wird Angiogenese nur im Embryo und Fetus sowie beim Adulten im Rahmen zyklischer Prozesse im Eierstock und in der Plazenta und bei der Entwicklung der Milchdrüse gefunden. Alle anderen Formen der Angiogenese sind mit pathologischen Vorgängen verbunden (Findlay, 1986). Angiogenese zu stimulieren, könnte beispielsweise bedeuten, die Ausbildung von Kapillaren in einem ischämischen Gebiet anzuregen und dieses dadurch neu zu vaskularisieren. Umgekehrt würde die Inhibierung der Angiogenese, die sogenannte Anti-Angiogenese, abnormes Wachstum, wie dies bei Tumoren der Fall ist, durch Ausschalten der Blutzufuhr beenden (Folkman, 1984).

Im Mittelpunkt der Angiogenese stehen die Endothelzellen, welche alle Gefäße auskleiden und während der Angiogenese kaskadenartig die Phasen der Migration, Proliferation und Differenzierung durchlaufen (Folkman, 1984). An der Angiogenese sind jedoch auch periendotheliale Komponenten beteiligt wie beispielsweise die Basalmembran, die erst, um die Migration der Zellen zu ermöglichen, abgebaut und später als Umhüllung der neu entstandenen Gefäße wieder aufgebaut werden muss (Grant und Kleinman, 1997).

Der wichtigste Wachstumsfaktor für Endothelzellen ist der Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). Seine Rezeptoren, VEGFR-1 und VEGFR-2, wurden bislang fast ausschließlich auf Endothelzellen gefunden. VEGF führt in vitro zur Migration und Proliferation der Zellen und in vivo zum gesamten Ablauf der Angiogenese. Er wird daher vor allem in Geweben, in denen neue Blutgefäße benötigt werden, produziert.

Über die Rolle des Wachstumshormons im Rahmen der Angiogenese ist nicht viel bekannt. Der Rezeptor des Wachstumshormons wurde jedoch mittels immunhistochemischer Untersuchungen im bovinen Ovar nachgewiesen (Budde, 1999).

In der Angiogeneseforschung wird mit unterschiedlichen Methoden gearbeitet, wobei vielfach Tiermodelle zur Anwendung kommen, die heute nicht nur in tierschützerischer sondern auch in methodischer Hinsicht in die Kritik geraten sind (Auerbach et al., 2000). Schon seit längerem werden daher auch Untersuchungen mit Endothelzellen durchgeführt, die aus Organen isoliert und in vitro angezüchtet wurden. In solchen Kulturen kann eine als in vitro-Angiogenese bezeichnete Migration und Proliferation der Zellen, und schließlich auch die Bildung gefäßähnlicher Strukturen durch die Endothelzellen beobachtet werden (Folkman und Haudenschild, 1980). Besonders geeignet für die Erforschung der Angiogenese sind mikrovaskuläre Endothelzellen aus Organen, in denen auch physiologischerweise angiogenetische Vorgänge auftreten, wie dies beispielsweise beim Corpus luteum der Fall ist.

Die Hauptaufgabe dieser Untersuchung war zum einen die Charakterisierung der zellulären Mechanismen der einzelnen Stadien der in vitro-Angiogenese durch licht- und elektronenmikroskopische Untersuchung von Endothelzellkulturen aus dem bovinen Corpus luteum vor und während der Angiogenese.

Mittels des immunhistochemischen Nachweises von Laminin, eines typischen Bestandteils der Basalmembran, sollte in einem weiteren Schritt gezeigt werden, ob die kultivierten Zellen während der in vitro-Angiogenese eine basalmembranähnliche Struktur ausbilden.

Zum anderen war im Rahmen dieser Untersuchung eine molekularbiologische Charakterisierung der Endothelzellen geplant. Es sollte versucht werden, die Genexpression des Vascular Endothelial Growth Factor, seiner beiden Rezeptoren und des Rezeptors für das Wachstumshormon mittels Polymerase Kettenreaktion in den kultivierten Zellen nachzuweisen.