

6. Zusammenfassung

Angiogenese ist die Neubildung von Blutgefäßen durch Sprossung von Kapillaren aus bereits bestehenden Gefäßen. Zur Erforschung der Angiogenese werden in vitro-Modelle verwendet, in denen die Migration und Proliferation der Endothelzellen, die Bildung gefäßähnlicher Strukturen und die Bildung basalmembranähnlicher Strukturen beobachtet werden kann. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die einzelnen Phasen dieser in vitro-Angiogenese darzustellen. Zu diesem Zweck wurden Endothelzellen aus dem Corpus luteum in Blüte und in Rückbildung angezchtet und in verschiedenen Stadien licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Die Ausbildung einer basalmembranähnlichen Struktur und ihre Anordnung zu den Endothelzellen wurde durch immunhistochemischen Nachweis der Basalmembrankomponente Laminin gezeigt.

Wurden Endothelzellen neu ausgesät, dann war vor Beginn der in vitro-Angiogenese erst eine starke Proliferation der Zellen und die Kontaktaufnahme der Zellen durch lange Ausläufer zu beobachten. Mit Erreichen der Konfluenz wurden diese Ausläufer zurückgebildet und die Zellen nahmen eine polygonale Form im sogenannten Kopfsteinpflastermuster an.

Den Beginn der in vitro-Angiogenese stellte, noch bevor an den Zellen selbst Veränderungen zu erkennen waren, die Deposition von Laminin in Form von kurzen, faserartigen interzellulären Strukturen dar. Nachfolgend konnte bei den Endothelzellen die erneute Ausbildung länglicher Fortsätze und die längsgerichtete Aneinanderlagerung von einzelnen Zellen beobachtet werden. In der folgenden Phase formten die Zellen einzelne, ringartige Gebilde und bildeten schließlich eine netzartige Struktur, die die gesamte Kultur umfasste. Laminin und fibrilläres Material wurde bei den ringartigen Strukturen zwischen den Zellen, vor allem aber den Ringen außen anliegend gefunden. Diese einseitige Ablagerung von basalmembranähnlichem Material wies darauf hin, dass die Zellen zu diesem Zeitpunkt eine eindeutige Polarität besaßen, wobei sich die luminale Seite nach innen, die basale Seite nach außen richtete. Größere Maschen dieses Netzwerkes konnten durch Zellsprosse geteilt werden, in deren Zentrum ebenfalls basalmembranähnliches Material auftrat. Dieser Vorgang wies starke Ähnlichkeit mit der in vivo in

verschiedenen Geweben beobachteten Intussuszeption auf, bei der Gefäße durch Bildung von Pfeilern geteilt werden. Anschließend kam es zur Umformung des primären Netzwerkes mit Ausbildung solider Zellstränge und gleichzeitiger Rückbildung der feineren Strukturen. Im Inneren der soliden Stränge konnte wiederum Laminin und fibrilläres Material gezeigt werden, so dass auch hier die basale und luminale Seite der Zellen eindeutig bestimmt war. Lumina scheinen durch Ausbildung intrazellulärer Vakuolen zu entstehen. Anhand einer 8 Monate alten Langzeitkultur konnte schließlich erstmals die spontane Rückbildung von zuvor entstandenen, endothelialen Strukturen beobachtet werden.

Die Phasen der *in vitro*-Angiogenese wiesen starke Ähnlichkeiten mit der Angiogenese *in vivo* auf. Dies betraf die Ausbildung ring- und netzartiger Strukturen *in vitro* und die Formung eines primären Kapillarnetzes durch Anastomosen und Schlingenbildung der Kapillarsprossen *in vivo*. Die in den Zellkulturen beobachtete Bildung solider Zellstränge und Rückbildung des feineren Netzwerkes war mit der Remodellierung des primären Gefäßnetzes in reifere Strukturen mit größeren und kleineren Gefäßen vergleichbar. Ähnlichkeiten waren auch bei der Rückbildung der endothelialen Strukturen zu finden. Für die *in vitro*-Angiogenese scheint dabei ein Grundprogramm zu existieren, das nicht nur einen bestimmten schrittweisen, sondern auch einen zeitlichen Ablauf vorgibt.

Ein weiteres Ziel der Untersuchung war, die Expression des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), seiner beiden Rezeptoren, VEGFR-1 und VEGFR-2 und die Expression des Rezeptors für Wachstumshormon mittels PCR nachzuweisen.

Alle untersuchten Proteine wurden deutlich von den untersuchten Endothelzellen exprimiert. Es schienen grundsätzlich keine signifikanten Unterschiede in der Ausprägung während der verschiedenen Phasen der Angiogenese aufzutreten. Bemerkenswert war vor allem die Expression des VEGF durch die Endothelzellen selbst. Eine besonders starke Expression zeigte der Wachstumshormon-Rezeptor. Dieses Ergebnis wies darauf hin, dass GH in die Blutgefäßentwicklung involviert sein könnte, wobei vor allem ein Einfluss auf die Proliferation der Endothelzellen über den GHR denkbar wäre.