

Aus dem
Institut für Veterinär-Pathologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
und der Firma Schering AG

**Immunhistochemische Darstellung
des VEGF-Rezeptors KDR
in Affengeweben**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
DOCTOR MEDICINAE VETERINARIAE
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
PETRA LEMNITZ
geb. Schulze
Tierärztin aus Berlin

Berlin 2002

Journal – Nr.: 2601

GEDRUCKT MIT GENEHMIGUNG
DES FACHBEREICHES VETERINÄRMEDIZIN
DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. vet. M. F. G. Schmidt

Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. R. Rudolph

Zweiter Gutachter: Privatdozent Dr. med. M. Schirner

Tag der Promotion: 24.05.2002

für meine Eltern
und
im Gedenken an
meine Tochter Karoline

Die Stimme des Intellekts ist leise.
(Sigmund Freud)

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG DER ARBEIT	6
2. LITERATURÜBERSICHT	8
2.1. ANGIOGENESE UND VASCULOGENESE.....	8
2.1.1. <i>Definition</i>	8
2.1.2. <i>Prozeß der Angiogenese</i>	8
2.1.3. <i>Physiologische Angiogenese</i>	10
2.1.4. <i>Pathologische Angiogenese</i>	10
2.2. REGULATORSTOFFE IM PROZEß DER ANGIOGENESE.....	13
2.2.1. <i>Angiogenese-Stimulatoren</i>	13
2.2.2. <i>Angiogenese-Inhibitoren</i>	14
2.2.3. <i>Bifunktionale vaskuläre Wachstumsfaktoren</i>	15
2.3. KLINISCHE BEDEUTUNG DER ANGIOGENESE	15
2.4. VEGF UND SEINE REZEPTOREN	17
2.4.1. <i>Historischer Überblick</i>	17
2.4.2. <i>Molekularbiologie von VEGF</i>	17
2.4.3. <i>Biologische Aktivität von VEGF</i>	19
2.4.4. <i>Vorkommen</i>	21
2.4.5. <i>VEGF-verwandte Moleküle</i>	22
2.4.6. <i>VEGF-Rezeptoren</i>	24
2.4.6.1. <i>Struktur und Molekularbiologie von KDR</i>	25
2.4.6.2. <i>Signalkaskade</i>	26
2.4.6.3. <i>Vorkommen von KDR</i>	28
2.4.7. <i>Bedeutung von VEGF für neue Therapiestrategien</i>	30
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	32
3.1. MATERIAL UND METHODEN.....	32
3.1.1. <i>Untersuchungsmaterial</i>	32
3.1.2. <i>Verarbeitung der Gewebeproben</i>	32
3.1.2.1. <i>Anfertigung von Gewebeschnittpräparaten</i>	33
3.1.3. <i>Immunhistochemische Methoden</i>	33
3.1.3.1. <i>Prinzip der Enzym-Immunkomplex-Methoden</i>	33
3.1.3.2. <i>Zwei-Schritt-indirekte Methode</i>	33
3.1.3.3. <i>Primärantikörper</i>	34
3.1.3.4. <i>Versuchsdurchführung</i>	34
3.1.3.5. <i>Spezifitätskontrolle</i>	35
3.1.3.6. <i>Auswertung und Dokumentation</i>	35
3.2. ERGEBNISSE	36
3.2.1. <i>Vorversuche zur Methodenetablierung für den Antikörper gegen den VEGF-Rezeptor KDR</i>	36
3.2.1.1. <i>Auswahl des Fixativs</i>	36
3.2.2. <i>Immunhistochemischer Nachweis des KDR in Normalgewebe von Affen</i>	36
Abb.13: <i>Thymus, Spezifitätskontrolle</i>	41
Abb.33: <i>Zwölffingerdarm, Negativkontrolle</i>	50
4. DISKUSSION	53
5. ZUSAMMENFASSUNG	59
6. SUMMARY	62

7. LITERATURVERZEICHNIS	65
8. ANHANG	89
8.1. VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN	89
8.2. PUFFERLÖSUNG	89
8.3. FIXIERLÖSUNG.....	90

Danksagung

Herrn PD Dr. Schirner und Herrn Dr. Menrad, Fa.Schering AG, danke ich für die Überlassung dieses Themas sowie für die wissenschaftliche Betreuung und die engagierte Unterstützung bei der Entstehung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. med. vet. R. Rudolph, Institut für Veterinärpathologie der Freien Universität Berlin, danke ich für die spontane Bereitschaft diese Arbeit zu betreuen und für seine Hilfestellung bei der Auswertung der Ergebnisse.

Ein ganz besonderes Dankeschön gilt den Laborantinnen der Abteilung „Experimentelle Onkologie“, Fa.Schering AG, für ihre zahlreichen praktischen Hilfestellungen im Labor sowie ihre freundschaftliche Unterstützung.

Bei Robert Lemnitz, Katja Tiedtke und Melanie Lerch möchte ich mich ganz herzlich für ihre Freundschaft, den steten Ansporn, die vielen aufmunternden Gespräche und zahlreichen Ablenkungen bedanken, die mir sehr geholfen haben durchzuhalten. Auch für Rat und Tat bei sämtlichen Computerfragen möchte ich Katja Tiedtke und Thomas Hilsmann danken.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir das Studium der Veterinärmedizin ermöglicht haben und jederzeit für mich da waren. Sie hatten stets ein offenes Ohr für meine Belange und haben mit ihrem liebevollen Verständnis wesentlich zu dieser Arbeit beigetragen.

Intellektuelle Erkenntnisse sind Papier.
(Hermann Hesse)

Lebenslauf

Name: Petra Lemnitz, geb. Schulze

Anschrift: Schenkestr.7 in 10318 Berlin-Lichtenberg
Tel.: 030/ 50 15 87 80

Geburtsdatum: 21. Januar 1971 in Berlin-Schöneberg

Familienstand: verheiratet mit Robert Lemnitz, Stadtinspektor

Eltern: Vater: Joachim Schulze, Installateur
Mutter: Ingrid Schulze, geb. Rummelt, Schneiderin

Schulausbildung: 1977-1981 Maria-Montessori-Grundschule, Berlin-Tempelhof
1981-1983 Grundschule auf dem Tempelhofer Feld, Berlin-Tempelhof
1983-1990 Askanisches Gymnasium, Berlin-Tempelhof

Schulabschluß: Allgemeine Hochschulreife

Berufsausbildung: Sept.1990 bis Juli 1993 Ausbildung zur Biologielaborantin bei der Fa. Schering AG in Berlin mit IHK-Abschluß

berufliche Tätigkeit: Juli 1993 bis Okt.1993 Biologielaborantin in der Abteilung „Forschung Kontrastmittel für Kernspintomographie“ bei der Fa. Schering AG in Berlin

Universitätsausbildung: Okt.1993 bis Mai 1999 Studium der Veterinärmedizin an der FU Berlin

Universitätsabschluß: Mai 1999 Staatsexamen, Abschlußnote 2,68

Dissertation: März 1996 bis Juli 1999 Doktorantin in der Abteilung „Onkologie“ der Fa. Schering AG in Berlin

berufliche Tätigkeit: seit Okt.1999 Pharmaberaterin bei der Fa. Abbott GmbH, Wiesbaden

Sprachkenntnisse: Französisch, Englisch

Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, Petra Lemnitz, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, daß ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 06.12.2001