

Inhalt

1 Einleitung	1
1.1 Epidemiologie des Mammakarzinoms	1
1.2 Früherkennung und Diagnostik	2
1.3 Das Blutgefäßsystem	3
1.3.1 Allgemeines	3
1.3.2 Endothel	3
1.3.3 Basalmembran	4
1.3.4 Perizyten	4
1.4 Entstehung des Blutgefäßsystems	5
1.4.1 Blutgefäßentstehung in der Embryonalentwicklung	5
1.4.2 Neubildung von Blutgefäßen nach der Embryonalentwicklung	6
1.5 Blutgefäßentstehung beim Tumor	8
1.5.1 Allgemeines	8
1.5.2 Angiogenic switch	8
1.5.3 Struktur und Funktion von Tumorgefäßen	10
1.5.4 Mechanismen der Gefäßentstehung bei Tumoren	11
1.5.5 Angiogenese	12
1.5.6 Vaskulogenese	14
1.5.7 Intussuszeption	16
1.6 Charakteristika endothelialer Vorläuferzellen (EPC)	17
1.6.1 Allgemeines	17
1.6.2 Identifizierung	17
1.6.3 Mobilisation	19
1.7 Die VEGF – Familie	20
1.7.1 Allgemeines	20

1.7.2 VEGF (oder VEGF-A)	21
1.7.3 VEGF – Produktion und – Regulation	22
1.7.4 VEGF – Rezeptoren	22
1.8 basic Fibroblast Growth Factor (bFGF, FGF-2)	23
2 Zielsetzung	25
3 Material und Methoden	26
3.1 Charakterisierung des Teilnehmerkollektivs	26
3.1.1 Altersstruktur	26
3.1.2 Patientinnen	26
3.1.3 Klinische und histologische Charakteristika der Karzinompatientinnen	28
3.2 Probengewinnung	28
3.3 Durchflußzytometrie	29
3.3.1 Darstellung der endothelialen Vorläuferzellen innerhalb der mononukleären Zellfraktion durch extrazelluläre Mehrfach-Markierung	31
3.4 Das MACS-System	32
3.4.1 Zellisolierung	33
3.4.2 Verwendung des magnetisch konjugierten Antikörpers	35
3.4.3 Magnetische Separation mittels MACS	35
3.4.4 Verwendung des 2. Antikörpers	35
3.5 Isolierung und Kultivierung humaner endothelialer Vorläuferzellen	36
3.6 Flowcytometrische Bestimmung des von Willebrand Faktors mittels der Biotin-Streptavidin-Methode	37
3.7 Identifizierung von Endothelzellen durch die Aufnahme von Dil-Ac-LDL	38

3.8 Elisa (Enzymimmunoassay)	39
3.8.1 Quantitative Bestimmung des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) im Serum	41
3.8.2 Quantitative Bestimmung des basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) im Serum	42
3.9 Statistik	43
4 Ergebnisse	44
4.1 Durchflußzytometrie	44
4.1.1 Darstellung der endothelialen Vorläuferzellen innerhalb der mononukleären Zellfraktion durch extrazelluläre Mehrfach-Markierung	44
4.1.2 Statistische Auswertung der extrazellulären Mehrfachmarkierung durch CD34 und VEGFR2	47
4.1.2.1 Erklärung der Boxplot-Darstellungen	47
4.1.2.2 Vergleich der Diagnose mit dem Anteil der VEGFR2 ⁺ CD34 ⁺ Zellen im peripheren Blut	47
4.1.2.3 Vergleich des histologischen Typs mit dem Anteil der VEGFR2 ⁺ CD34 ⁺ Zellen im peripheren Blut	48
4.1.2.4 Vergleich der T-Stadien mit dem Anteil der VEGFR2 ⁺ CD34 ⁺ Zellen im peripheren Blut	49
4.1.2.5 Vergleich des Lymphknotenstatus mit dem Anteil der VEGFR2 ⁺ CD34 ⁺ Zellen im peripheren Blut	50
4.1.2.6 Vergleich des Östrogen-Rezeptorstatus mit dem Anteil der VEGFR2 ⁺ CD34 ⁺ Zellen im peripheren Blut	51
4.1.2.7 Vergleich des HER-2-neu Rezeptorstatus mit dem Anteil der VEGFR2 ⁺ CD34 ⁺ Zellen im peripheren Blut	52
4.1.2.8 Vergleich der Menopausenstatus mit dem Anteil der VEGFR2 ⁺ CD34 ⁺ Zellen im peripheren Blut	53
4.1.2.9 Intraindividuelle Verlaufsbeobachtung	54
4.1.3 Auswertung der durchflußzytometrischen Bestimmung der CD133 ⁺ CD34 ⁺ Zellen	55
4.1.3.1 Darstellung der CD133 ⁺ CD34 ⁺ Zellen innerhalb der mononukleären Zellfraktion	55
4.1.3.2 Statistische Auswertung des CD34 ⁺ CD133 ⁺ Zellanteils innerhalb der mononukleären Zellfraktion	57
4.1.4 Auswertung der durchflußzytometrischen Bestimmung des von Willebrand Faktors	58

4.2 Fluoreszenzmikroskopie	59
4.2.1 Identifizierung der Endothelzellen durch die Aufnahme von fluoreszenzmarkierten acetylierten LDL	59
4.3 Elisa	61
4.3.1 Auswertung der quantitative Bestimmung des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) im Serum	61
4.3.2 Auswertung der quantitative Bestimmung des basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) im Serum	62
4.3.3 Vergleich von bFGF- und VEGF-Serumkonzentration	63
5 Diskussion	64
5.1 Vergleich der Ergebnisse mit dem bisheriger Kenntnisstand	64
5.2 Zukünftige Anwendungsmöglichkeiten und Projekte	75
6 Zusammenfassung	79
7 Literaturverzeichnis	82
8 Anhang: Abkürzungen	90
9 Anhang: Abbildungen	92
10 Anhang: Tabellen	94
11 Anhang: Statistik	95
Danksagung	102
Eidesstattliche Erklärung	103
Lebenslauf	104