

Maximilian Heiß

Dr. med.

Untersuchung der angiogenen Eigenschaften immortalisierter Endothelzellen *in vitro*

Fach/Einrichtung: Physiologie

Doktorvater: apl. Prof. Dr. rer. physiol. Thomas Korff

Gefäß- und Tumorerkrankungen stellen in den Industrienationen die beiden häufigsten Todesursachen dar und sind zusammengenommen für ca. 60-70% der Todesfälle verantwortlich. Bei der Suche nach neuen Therapiemöglichkeiten ist die Erforschung der Angiogenese, also das Aussprossen neuer Kapillaren aus vorbestehenden Blutgefäßen, in den Fokus der biomedizinischen Forschung gerückt. Durch die Hemmung von Angiogenese können heutzutage Erfolge in der Therapie fortgeschrittener Tumore erzielt werden. Ebenso werden Bestrebungen verfolgt, ischämiebedingte Gewebeschäden durch die gezielte Stimulierung der Angiogenese zu behandeln. Für die Erprobung neuer pro-/anti-angiogen wirkender Substanzen werden verlässliche Zellkulturmodelle benötigt. In der vorliegenden Arbeit wurde daher untersucht, inwiefern sich immortalisierte Endothelzellen aus der humanen Nabelschnurvene (iHUEVC) zur Untersuchung von Angiogenese *in vitro* eignen.

Die molekularbiologische, proteinbiochemische und immunfluoreszenzbasierte Analyse zeigte, dass die hier verwendeten immortalisierten HUVEC (*human umbilical vein endothelial cells*) relevante Endothelzellcharakteristika, wie die Präsenz von Angiopoietin-2, PECAM-1 (*platelet endothelial cell adhesion molecule-1*), VE-Cadherin (*vascular endothelial-Cadherin*) und von Willebrand-Faktor aufwiesen. Auf die Stimulation mit unterschiedlichen Zytokinen reagierten die immortalisierten Zellen primärzellähnlich, wie z.B. mit einer Zunahme der VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule-1*) Proteinsynthese nach Tumornekrosefaktor- α Stimulation. Der Wachstumsfaktor VEGF (*vascular endothelial growth factor*) führte sowohl in primären als auch in immortalisierten HUVEC zur Aktivierung der MAP-Kinasen ERK1/2, p38 und CREB.

Den methodischen Schwerpunkt der Arbeit bildete die Anwendung eines drei-dimensionalen *in vitro* Angiogenesesystems, das auf Endothelzellsphäroiden definierter Größe beruht. Es zeigte sich, dass die immortalisierten HUVEC in der Lage waren, kapilläre Sprossen innerhalb der kollagenhaltigen Matrix auszubilden, wobei die additive Länge dieser Sprossen mit steigender VEGF-Dosis zunahm. Während es bei der Verwendung von primären HUVEC aus verschiedenen Nabelschnüren zu Unterschieden in der Gesamtsprossenlänge kam, zeigten die immortalisierten HUVEC eine geringe interexperimentelle Variabilität der Sprossungsantwort. Bei der Applikation von Angiogenese-Inhibitoren führte die Analyse unterschiedlicher Primärzellpopulationen dazu, dass bestimmte anti-angiogene Effekte maskiert wurden. Im Gegensatz dazu zeigte sich bei Einsatz der immortalisierten HUVEC eine hohe interexperimentelle Reproduzierbarkeit der anti-angiogenen Effekte.

Zusammengefasst zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass sich die untersuchten immortalisierten HUVEC für die Analyse der Angiogenese *in vitro* eignen. Des Weiteren wurde das sphäroidbasierte *in vitro* Angiogenesesystem dazu genutzt, um morphologisch detaillierte Zeitrafferaufnahmen der Endothelzellsprossung anzufertigen. Hierbei zeigten die aussprossenden Endothelzellen an der Sprossenspitze Übereinstimmung mit der morphologischen Erstbeschreibung von Tip-Zellen. Die Erkenntnisse aus dieser Arbeit können einen Beitrag dazu leisten, die pro-/anti-angiogene Wirksamkeit von Substanzen effektiv und detailliert *in vitro* zu untersuchen.