

Carolin Krüger geb. Zimmer

Dr. med.

Effekt von Growth of Differentiation Factor 5 auf die Gefäßneubildung im Beinischämie-Modell der Maus

Geboren am 23. Juli 1982 in München

Staatsexamen am 13. Mai 2008 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktormutter: Frau Prof. Dr. med. C. P. Tiefenbacher

Eine neuartige Behandlungsstrategie der fortgeschrittenen Atherosklerose ist die therapeutische Angiogenese. Als Angiogenese bezeichnet man die Sprossung von Kapillaren aus bestehenden Gefäßen. Der Prozess der Angiogenese wird durch eine Vielzahl von Faktoren reguliert, deren Bedeutung im Einzelnen noch unklar ist. Für den Wachstumsfaktor GDF-5, ein Mitglied der TGF- $\beta$  Familie, wurde in vitro und in vivo ein Effekt auf die Angiogenese gezeigt. Ziel dieser Studie war es daher, das Potential von GDF-5 auf die Angiogenese in einem etablierten in vivo Beinischämiemodell an der Maus zu untersuchen.

Zur Durchführung der Versuche wurden Mäuse an der rechten A. femoralis operiert und die arterielle Blutversorgung durch zweifache Ligation und Durchtrennung unterbunden. Anschließend wurde das rekombinante Protein rhGDF-5 intramuskulär im Bereich der Adduktorengruppe injiziert. Neben der Kontrollgruppe (Injektion von Placebo) wurden drei Versuchsgruppen mit unterschiedlichen Konzentrationen von GDF-5 untersucht. Zur Verlaufskontrolle der Durchblutung wurde die Laser-Doppler-Flußmessung verwendet. Nach Ablauf von 30 Tagen wurden die Tiere zur Fixation perfundiert. Es folgte eine immunhistochemische Färbung von CD31, HIF-1 $\alpha$ , TGF- $\beta$  und VEGF. Zusätzlich wurde über Semidünnschnitte die Morphologie der Muskelabschnitte hinsichtlich der Kapillarisation bewertet.

Initial zeigte sich mittels Dopplers eine signifikante Reduktion der Extremitätendurchblutung als Hinweis für eine bestehende Ischämie. Nach 30 Tagen bestand kein Unterschied in der Durchblutung zwischen den Gruppen, gleichbedeutend mit einer kompletten Erholung der Extremitätenperfusion.

In den mit GDF-5- behandelten Gruppen zeigte sich für die niedrigste und höchste Dosierung eine signifikant stärkere Expression des Endothelmarkers CD31. Für die mittlere GDF-5

Dosierung zeigte sich ein Trend der Steigerung von CD31. Parallel dazu ließ sich eine positive Tendenz der vermehrten Kapillarenbildung über die Auswertung der Morphologie finden.

Bei der Überprüfung der molekularen Mechanismen deutet die Färbung durch VEGF auf eine geringere Ischämie der Testgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe hin. Bei der ischämischen Kontrollgruppe war eine stärkere Anfärbung sichtbar als bei den Testgruppen. Des Weiteren war die TGF- $\beta$  Sekretion signifikant verringert bei der höchsten Konzentration an GDF-5. In Zusammenhang mit den anderen Ergebnissen kann dies auch auf eine stärkere Angiogenese hindeuten. Die Effektivität einer einmaliger Applikation von rekombinatem GDF-5 konnte in der vorliegenden Untersuchung nachgewiesen werden. Dies war an der Bildung von neuem Knochen im Muskel bei den Tieren mit der höchsten Konzentration von GDF-5 erkennbar. Für zukünftige Untersuchungen muss bedacht werden, dass GDF-5 neben proangiogenetischen Effekten die Knochenformation begünstigt. Die vorliegende Studie zeigt hier einen möglichen Zusammenhang zwischen Angiogenese und Knochenwachstum.

Obwohl für Angiogenese theoretisch ein großes therapeutisches Potential bestünde, ist die Datenlage hierzu bislang äußerst heterogen. Selbst in Studien mit etablierten Angiogenesefaktoren wie FGF und VEGF sind uneinheitliche Ergebnisse zu verzeichnen. In der vorliegenden Studie zeigen sich vielversprechende Hinweise für eine vermehrte Kapillarenbildung durch den Wachstumsfaktor GDF-5 nach intramuskulärer Injektion. Ob GDF-5 in der Zukunft auf dem Gebiet der therapeutischen Angiogenese für den Menschen eine Rolle spielen wird, welche Faktoren hierbei mitberücksichtigt werden müssen und Fragen nach der idealen Applikationsform und -dosierung müssen in weiteren Untersuchungen geklärt werden.