

Inhalt

1	EINLEITUNG	1
2	SCHRIFTTUM	2
2.1	Gefäßsystem	2
2.1.1	Aufbau arterieller Gefäße	2
2.2	Gefäßverletzung	4
2.2.1	Art der Gefäßverletzung bzw. Verletzungsmodelle	4
2.2.2	Pathophysiologie der vaskulären Regeneration	5
2.2.3	Einsatz von Stammzellen im Hinblick auf die vaskuläre Regeneration	6
2.3	Atherosklerose/Arteriosklerose	9
2.3.1	Definition	9
2.3.2	Pathogenese der Atherosklerose	10
2.3.3	Folgeerscheinungen der Erkrankung	14
2.3.4	Therapieansätze	15
2.4	Thrombozyten	17
2.4.1	Aufbau der Thrombozyten	17
2.4.2	Rolle der Thrombozyten bei Gefäßverletzung	19
2.4.3	Rolle der Thrombozyten bei der Atheroskleroseentstehung	19
2.5	Oberflächenrezeptoren der Thrombozytenmembran	21
2.5.1	Integrine	21
2.5.2	Leuzinreiche Glykoproteine	22
2.5.3	Selektine	22
2.5.4	Glykoproteine der Immunglobulin-Superfamilie	23
2.5.4.1	Bedeutung des Glykoproteins VI	23

2.5.4.2	Rekombinantes lösliches Glykoprotein VI	25
2.6	Stamm- und Progenitorzellen	26
2.6.1	Einteilung der Stammzellen	26
2.6.2	Bedeutung der Stammzellen in der regenerativen Medizin	28
2.6.3	Endotheliale Stammzellen	29
2.6.3.1	Interaktionen von Thrombozyten mit endothelialen Stammzellen	32
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	34
3.1	Herstellung des bispezifischen Adhäsiomsmoleküls GPVI-Fc-CD133	34
3.2	Isolation und Vorbereitung der CD34⁺ Zellen aus Leukapherisat	35
3.2.1	Isolation der Zellen	35
3.2.2	Färbung der Zellen mit PKH26	35
3.2.3	Inkubation der CD34 ⁺ Zellen mit GPVI-Fc-CD133-Konstrukt bzw. Einzelkomponenten	36
3.3	Versuchstiere und Haltungsbedingungen	36
3.4	Versuchsablauf	37
3.4.1	Vorbereitung der Mäuse zur Operation	38
3.4.1.1	Carotis-Ligatur-Verletzungsmodell	38
3.4.1.2	Verletzung der A. carotis mittels Drahtdenudation	39
3.4.2	Myokardinfarkt-Modell	41
3.4.3	Applikation der Zellen und Intravitalmikroskopie	43
3.4.4	Rekonvaleszenzphase der Maus nach Gefäßverletzung	44
3.4.5	Doppler-Ultraschall nach Denudation der A. carotis	44
3.4.6	Tötung und Gefäß- bzw. Organentnahme	46
3.4.6.1	Gefäßverletzungsmodelle	46
3.4.6.2	Myokardinfarkt-Modell	46

3.5	Histologische Untersuchung	47
3.5.1	Probenaufarbeitung	47
3.5.2	Färbungen der histologischen Schnitte	48
3.5.2.1	Elastica van Gieson-Färbung	48
3.5.2.2	Hämatoxylin-Eosin-Färbung	48
3.6	Histomorphometrische Auswertung	49
3.6.1	Gefäße	49
3.6.2	Herz	50
3.7	Statistische Berechnungen	51
3.8	Ergebnisse	51
3.8.1	Ergebnisse der Untersuchungen am Carotis-Ligatur-Modell	51
3.8.1.1	Darstellung der histomorphometrischen Daten der linken A. carotis nach Gabe des GPVI-Fc-CD133-Konstrukt im Vergleich zur Kontrollgruppe	52
3.8.2	Ergebnisse der Untersuchungen am Verletzungsmodell mittels Drahtdenudation	53
3.8.2.1	Untersuchungsergebnisse des Versuchsansatzes mit Ultraschalluntersuchung und Tötung 2 Wochen post operationem	53
3.8.2.1.1	Vergleich der Widerstandsindizes der Verumgruppe mit der Kontrollgruppe	53
3.8.2.1.2	Darstellung der histomorphometrischen Daten der linken A. carotis nach Gabe des GPVI-Fc-CD133-Konstrukt im Vergleich zur Kontrollgruppe	54
3.8.2.2	Untersuchungsergebnisse des Versuchsansatzes mit Ultraschalluntersuchung und Tötung 5 Wochen post operationem	56
3.8.2.2.1	Vergleich der Widerstandsindizes der Verumgruppe mit der Kontrollgruppe	56
3.8.2.2.2	Darstellung der histomorphometrischen Daten der linken A. carotis nach Gabe des GPVI-Fc-CD133-Konstrukt im Vergleich zur Kontrollgruppe	58
3.8.2.3	Untersuchungsergebnisse des Versuchsansatzes mit Ultraschalluntersuchung und Tötung 3 Wochen post operationem mit	

	Erhöhung der Zellzahl auf 500 000 CD34 ⁺ Zellen pro Injektionsdosis	60
3.8.2.3.1	Vergleich der Widerstandsindizes der Verumgruppe mit der Kontrollgruppe	60
3.8.2.3.2	Darstellung der histomorphometrischen Daten der linken A. carotis nach Gabe des GPVI-Fc-CD133-Konstrukts im Vergleich zur Kontrollgruppe	62
3.8.3	Einfluss des bispezifischen Adhäsionsmoleküls GPVI-Fc-CD133 auf die Organregeneration am Beispiel des Myokardinfarkts	65
4	DISKUSSION	66
4.1	Diskussion der Versuchsdurchführung	66
4.1.1	Das Mausmodell	66
4.1.2	Wahl des Verletzungsmodells	66
4.1.3	Myokardinfarkt-Modell zur Untersuchung der Gewebe-regeneration	67
4.1.4	Schwierigkeiten bei der Durchführung der Drahtdenudation an der A. carotis	68
4.1.5	Verwendung von endothelialen Stammzellen	69
4.1.6	Einsatz des löslichen bispezifischen Adhäsionsmoleküls GPVI-Fc-CD133	70
4.1.7	Doppler-Sonographie zur Untersuchung des Gefäßflusses nach Drahtdenudation	72
4.1.8	Charakterisierung der histomorphometrischen Auswertung im Hinblick auf die Gefäßregeneration	73
4.2	Diskussion der Ergebnisse	73
4.2.1	Allgemeine Beobachtungen	73
4.2.2	Betrachtung der Einzelergebnisse	74
4.2.2.1	Vergleich der Widerstandsindizes nach Drahtdenudation in Verum- und Kontrollgruppe	74
4.2.2.1.1	Untersuchung nach 2 Wochen	74
4.2.2.1.2	Untersuchung nach 5 Wochen	75

4.2.2.1.3	Untersuchung nach 3 Wochen und Erhöhung der Zellzahl	76
4.2.2.2	Vergleich der histomorphometrischen Daten der denudierten A. carotis sinistra in Verum- und Kontrollgruppe	76
4.2.2.2.1	Tötung nach 2 Wochen	76
4.2.2.2.2	Tötung nach 5 Wochen	77
4.2.2.2.3	Tötung nach 3 Wochen	78
4.2.3	Einfluss der verabreichten Zellen auf die Gefäßheilung	79
4.2.4	Beeinflussung der Myokardregeneration mit Hilfe der kombinierten Gabe von CD34⁺ Zellen und dem GPVI-Fc-CD133-Fusionsprotein	80
4.2.5	Bedeutung der Stammzelltherapie im Rahmen der Behandlung des akuten Myokardinfarktes	81
4.2.6	Schlussfolgerung und Ausblick	82
5	ZUSAMMENFASSUNG	84
6	SUMMARY	86
7	LITERATURVERZEICHNIS	88
8	TABELLENVERZEICHNIS	105
9	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	106
10	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	109
11	ANHANG	111
12	DANKSAGUNG	120