

## 2 Medizinische Einführung

### 2.1 Angiogenese

Blutgefäße variieren sehr stark in ihrem Durchmesser und ihren Gefäßwandstärken. Die kleinsten Gefäße haben mit ca. 4 µm gerade Abmessungen für die Durchlässigkeit von Erythrozyten. Die Blutgefäße stellen ein reich verzweigtes Netzwerk dar, welches eine optimale Versorgung jeder Zelle mit genügend Sauerstoff und Nährstoffen gewährleistet. Die Bildung dieses Netzwerkes beginnt bereits in der fetalen Entwicklung und ist im Normalfall mit der Adoleszenz abgeschlossen. Bei Erwachsenen werden nur unter besonderen Bedingungen neue Blutgefäße angelegt, wie z.B. bei Wundheilung, Schwangerschaft, Tumorwachstum und einigen speziellen Krankheiten. Die Neubildung von Blutgefäßen aus bereits existierenden Blutgefäßen wird als Angiogenese bezeichnet. Der Begriff Angiogenese wurde 1935 zum ersten Mal geprägt, um die Formation von neuen Blutgefäßen in der Plazenta zu charakterisieren (9). Angiogenese tritt in verschiedenen physiologischen und pathologischen Prozessen in Erscheinung: ähnlich wie bei dem Vorgang der Blutgerinnung gibt es hemmende (angiostatische) und fördernde (angiogenetische) Faktoren.

#### 2.1.1 Tumorangiogenese

In den letzten Jahren gewann die Einsicht in die Rolle der Tumorangiogenese sowohl bei der Entstehung als auch bei dem Vorgang der Malignisierung von Gliomen an Bedeutung (10). Gliome sind Geschwülste, die im Gehirn, im Rückenmark, in der Netzhaut des Auges oder in den peripheren Nervenzellen vorkommen. Sie zählen zu den am stärksten vaskularisierten Tumoren und ihr Wachstum wird durch zahlreiche angiogenetische Faktoren gesteuert. Die Tumorangiogenese wird vermutlich wie die Angiogenese der embryonalen Entwicklung reguliert: angiogenesebeteiligtes Gewebe schüttet Faktoren aus, die auf die Endothelzellen<sup>1</sup> wirken und so den Prozeß der Neubildung von Blutgefäßen in Gang setzen.

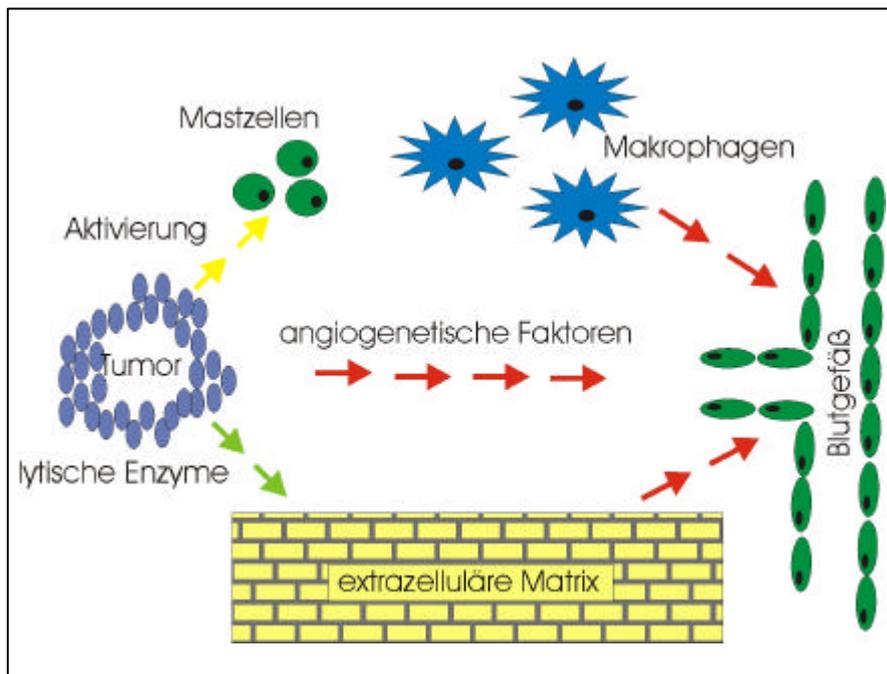
Die Bildungsorte dieser Faktoren sind entweder die Tumoren selbst, die Endothelzellen der Blutgefäßwände, Zellen des Immunsystems, wie Mastzellen oder Makrophagen<sup>2</sup> oder Zellen der extrazellulären Matrix. Abbildung 2.1 veranschaulicht den Prozeß der Angiogenese. Die

---

<sup>1</sup> Endothel: (griech. ενδον: innen, θηλειν: aufspriessen, erblühen) einschichtige zellige Auskleidung der Gefäße und serösen Höhlen

<sup>2</sup> Makrophagen: (engl. macrophages) Zellen zur Phagozytose von Bakterien, Mikroorganismen, Fremdkörpern, Zelltrümmern, polymerisierten löslichen Molekülen u.a. und deren Elimination oder Speicherung. Amöboid bewegliche mononukleäre Zellen aus Stammzellen stammend

Blutgefäßwände werden von Endothelzellen ausgekleidet. Diese teilen sich in der Regel sehr langsam, meist nur einmal in einigen Jahren, zum Teil aber auch erst nach mehr als 20 Jahren. Während der Angiogenese allerdings sind die Endothelzellen fähig, sich innerhalb weniger Tage zu teilen. Hierbei spaltet sich ein bereits existierendes Blutgefäß auf, die Endothelzellen migrieren zum blutunterversorgten Teil des Tumors, dort teilen sie sich und bilden ihrerseits wieder Zellen, die schnell proliferieren. Die Proliferation<sup>3</sup> von Endothelzellen ist ein Charakteristikum von malignen Gliomen und fehlt bei niedriggradigen Tumoren. Die maligneste Gliomform, das Glioblastom, ist ein hoch vaskularisierter Tumor, der als histologisches Merkmal typische mikrovaskuläre Proliferationen zeigt.



**Abb. 2.1** Schematischer Ablauf der Angiogenese und Beteiligung von Mastzellen, Makrophagen, Enzymen, angiogenetischen Faktoren und der extrazellulären Matrix an der Angiogenese.

### 2.1.2 WHO-Grading von Gliomen

Die Beurteilung sowohl der Gefäßdichte als auch der Gefäßqualität ist eine wichtige Komponente der meisten histologischen Grading-Systeme für Gliome. Die Klassifizierung von Gliomen basiert auf mikroskopischen Kriterien und wird an postoperativen Überlebensdaten verifiziert. Sie berücksichtigt die Klassifikation der World Health Organization (WHO) (11), (12). Viele Kriterien werden in verschiedenen Grading-Systemen gemeinsam genutzt: Mitoseindex<sup>4</sup>, Zelldichte, Kernatypien, Endothelzell-Proliferation und Nekrose<sup>5</sup>. 1995 haben Plate et al. ein Grading-System für Gliome zusammengefaßt, welches

<sup>3</sup> Proliferation: (lat. proles: Nachkomme, ferre: bringen) Wucherung

<sup>4</sup> Mitose: (griech. μίτος; Faden) Teilung des Zellkerns mit Chromosomenausbildung. Phasen der Mitose sind Pro-, Meta-, Ana- und Telophase

<sup>5</sup> Nekrose: (engl. necrosis) örtlicher, intravitaller, d.h. während des Lebens des Gesamtorganismus eintretender Tod von Zellen, Geweben oder Organen. Vor den morphologisch erkennbaren Erscheinungen im Bereich des Kerns und den verschiedenen Befunden an den einzelnen Organellen bzw. gleichlaufend mit diesen Vorgängen

in der nachfolgenden Tabelle 2.1 dargestellt wird (13). Grad I-Tumore mit der niedrigsten Malignität (in der Tabelle nicht aufgeführt) treten nach Resektion nicht wieder auf. Grad II-Tumore weisen noch eine Gleichgestaltung der Zellen und des Gewebekomplexes auf. Grad III- bis Grad IV-Tumore zeichnen sich durch steigende Malignität aus, verbunden mit Wucherungen und nekrotischem Gewebe.

	Grad II	Grad III	Grad IV
Zytologie <sup>6</sup>	Isomorphie <sup>7</sup>	Pleomorphie <sup>8</sup>	Pleomorphie
Histologie	Isomorphie	Vaskuläre Proliferation	Vaskuläre Proliferation, Nekrose
Art	Astrozytom, Oligodendrogliom	Anaplastisches Astrozytom, anaplastisches Oligodendrogliom	Glioblastom
Überlebenszeit (in Jahren)	5	2	<1

**Tab. 2.1 WHO-Klassifikation von Tumoren: aufgeführt sind einige Spezies der verschiedenen Grade mit ihren Eigenschaften in Histologie und Zytologie (13).**

### 2.1.3 Morphologie

Die Gefäßmorphologie maligner Tumore unterscheidet sich gegenüber benignem Gewebe. Die pathologischen Gefäße sind atypisch geformt und die größeren Gefäße mit einer hauchdünnen Muskelzellschicht umgeben. Die Blut-Hirn-Schranke, welche den Stoffaustausch zwischen Blut und Hirngewebe reguliert, unterbindet im benignen Fall den Übergang polarer und/oder großer Moleküle von der Blutbahn in das Gehirn, wo diese Stoffe neurotoxisch wirken könnten. Im Tumor kann die Blut-Hirn-Schranke gestört sein, was sich für diagnostische Zwecke als Vorteil in der Kontrastmittelanreicherungsfähigkeit und in der Penetration<sup>9</sup> von zytotoxischen Pharmaka für die Chemotherapie darstellt. Bei einer Blut-Hirn-Schrankenstörung kann Serum einschließlich seiner kolloidalen und gelösten Bestandteile über den Tumor in den extrazellulären Raum des ihn umgebenden Gewebes

---

kommt es zur Unfähigkeit der Zelle, in normaler Umgebung die spezifische Zusammensetzung des inneren Milieus aufrechtzuerhalten;

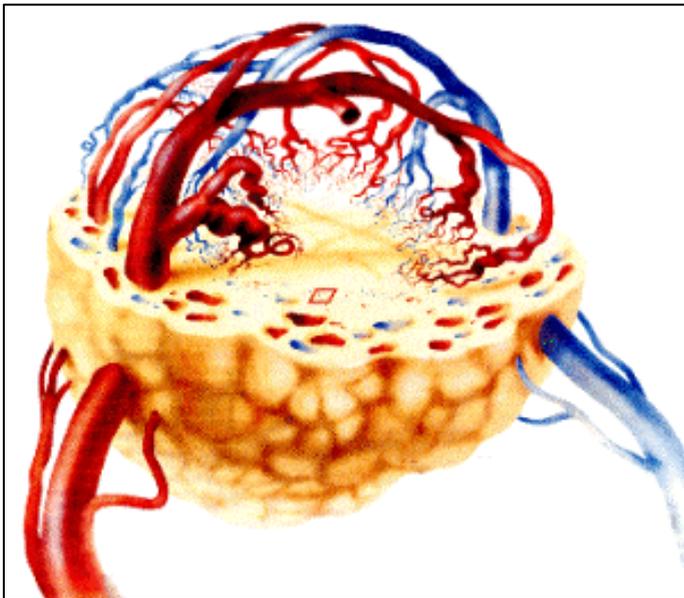
<sup>6</sup> Zytologie: (engl. cytology) Lehre vom Bau und von den Funktionen der Zellen

<sup>7</sup> isomorph: gleichgestaltig

<sup>8</sup> pleomorph: mehrgestaltig

<sup>9</sup> Penetration: Eindringen, Durchdringung

eindringen und dort den Wassergehalt des Gewebes drastisch erhöhen. Im peritumoralen<sup>10</sup> Gewebe experimenteller Hirntumore steigt dabei der Wassergehalt von  $70,1 \pm 1 \%$  auf  $80,3 \pm 2 \%$  (peritumorale weiße Substanz). Diese durch eine Zunahme des extrazellulären Wassers bedingte Gewebeswellung in der Umgebung des Tumors wird als peritumorales Ödem bezeichnet. In der Kernspintomographie nutzt man die Existenz einer Blut-Hirn-Schranke im intakten Gewebe. Bei Störung einer solchen Schranke im Tumor erfolgt eine Anreicherung von NMR-Kontrastmitteln im malignen Gewebe. Nach ihrer Applikation reichern sie sich zunächst im großen extrazellulären Raum des neoplastischen Gewebes an. Da sie aber keine Bindungen zum Tumorgewebe eingehen können, werden sie mit dem Strom des Serums weiter in das peritumorale Gewebe geschwemmt. Deshalb erreichen Kontrastmittel durch ihre Anreicherung im ebenfalls vergrößerten extrazellulären Raum des ödematösen Gewebes auch dort meßbare Konzentrationen. Dies führt zu einer Verwischung der Grenze zwischen Tumor und Ödem auf den konventionellen kernspintomographischen Postkontrastaufnahmen, wodurch die Diagnose erschwert wird. Gemeinsame Phänotypen pathologischen Gewebes sind eine Vielzahl von kranzförmig (siehe Abbildung 2.2) angeordneten Kapillaren, das Erscheinen von hochvaskularisierten Regionen und das Wuchern von Zellen.



**Abb. 2.2 Tumorvaskularisation: typische knäuel- bzw. kranzförmige Vaskularisation.**

Ein Großteil der Glioblastome entsteht aus primär niedriggradigen Gliomen. Der Übergang von benignen zu malignen Tumoren entsteht durch Rekrutierung von Blutgefäßen aus der Tumorumgebung (14). Auch das Wachstum des Tumors und die Invasion des Tumors in das benachbarte Gewebe ist auf die Angiogenese zurückzuführen.

<sup>10</sup> peri: (griech. περι: um, herum)

Ohne die Penetration von Blutgefäßen ist die Energiezufuhr nur durch Diffusion gewährleistet, so daß die Tumoren nur bis zu einer Größe von 1-2 mm heranwachsen können (15). Solche avaskulären Tumoren wachsen in der Regel nicht invasiv und sie bestehen nur aus einigen Millionen Zellen. Wenn nun bei einer Gruppe von Zellen eine Störung des lokalen Gleichgewichts der stimulierenden und hemmenden Faktoren der Angiogenese auftritt, beginnt der Tumor rapide zu wachsen. Es wird vermutet, daß die Stimulation der Bildung von neuen, den Tumor versorgenden Kapillaren (Angiogenese) sowohl auf genetische Transformation als auch auf bestimmte äußere „Streß-Bedingungen“ in der Tumorumgebung zurückzuführen ist (16).

Mittlerweile ist eine große Anzahl angiogenetischer Wachstumsfaktoren bekannt, die bei Tumoren konstant überexprimiert werden. Der saure und basische FGF (Fibroblast Growth Factor), EGF (Epidermal Growth Factor), TGF- $\alpha$  und TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor) sind Beispiele für solche direkten Angiogenesefaktoren (17).

TGF- $\alpha$  und EGF stimulieren die Proliferation der mikrovaskulären Endothelzellen. TGF- $\beta$  bewirkt ein Ansteigen der Makrophagen, Fibroblasten<sup>11</sup> und der Kollagenproduktion *in vivo*. HGF/SF (Heparine Growth Factor / Scatter Factor) fördern die Stimulation der Zellmigration, Proliferation, Proteaseproduktion, Invasion und Organisation der Endothelzellen in Röhrenform. HGF/SF ist daher für eine tumorfördernde Angiogenese verantwortlich. Der PDGF (Platelet-Derived Growth Factor) ist ein schwacher Angiogenesefaktor, der für dünne Muskelzellen mitosefördernd wirkt. Es konnte das angiostatische Protein Angiostatin isoliert werden, welches im oder in der Nähe des Primärtumors produziert wird. Dieses scheint den Sekundärtumor am Wachsen zu hindern. Solange der Primärtumor gedeiht, hindert er andere Tumoren (Metastasen) durch hohe Angiostatinproduktion daran, sich anderenorts im Körper zu entwickeln. Wird nun der Primärtumor operativ entfernt, kann es zu einem zahlreichen Metastasenwachstum kommen. Andere angiogenetische Faktoren sind bisher weniger gut charakterisiert, werden aber prinzipiell in drei Gruppen eingeteilt: 1. Niedermolekulare Endothelmitogene<sup>12</sup>, 2. Chemotaktische<sup>13</sup> Endothelzellfaktoren (stimulieren wahrscheinlich die direkte Bewegung nicht aber die Proliferation der Endothelzellen) und 3. Lipide.

---

<sup>11</sup> Fibroblasten: (engl. fibroblasts) Vorstufe der Fibrozyten, die wahrscheinlich an der Bildung der Bindegewebsfasern beteiligt sind

<sup>12</sup> mitogen: Mitosen erzeugend

<sup>13</sup> Chemotaxis: (biologische) Bewegung von Organismen auf chemische Reize zu (positive Chemotaxis) oder von diesen fort (negative Chemotaxis); tritt u.a. auf bei dem gegenseitigen Finden der Geschlechtszellen zwecks Vereinigung und bei dem Auffinden von Nahrung durch bewegliche Organismen. (Hämatologische) Wanderung von amöboiden Zellen, besonders Leukozyten durch Anlockung chemischer Substanzen bakterieller oder toxischer Natur im entzündeten Gewebe, die exogen oder körpereigen pathogen sind. Sie bewirken Anhalten des Blutstroms (Stase), Ansammlung, Auswanderung der Leukozyten und induzieren die Eiterbildung, die Phagozytose, die Ausheilung durch Aktivierung der Wanderzellen (Histozyten) u.a.

Die wichtigsten und am besten charakterisierten Faktoren sind der VEGF/VPF (Vascular Endothelial Growth Factor / Vascular Permeability Factor), PDGF und FGF-1 und FGF-2 (acidic / basic fibrioblast growth factor). Das Bekanntsein dieser Faktoren ist insofern wichtig, als daß sie in der Therapie eine wichtige Rolle spielen. Die richtige Therapie kann nur erreicht werden, wenn vorher eine eindeutige Diagnose erfolgt ist, wobei minimal invasive Verfahren von Vorteil sind.

#### **2.1.4 Visualisierung der Angiogenese**

Wie bereits anfangs erwähnt, stellt die MRT-Bildgebung eine weitere und möglicherweise geeignetere nicht-invasive Möglichkeit der antiangiogenetischen Therapiekontrolle dar. Sie erlaubt erstmals eine genaue Analyse des angiogenetischen Profils von Gliomen *in vivo*. Dazu soll bei experimentellen Gliomen ein genaues und zugleich in der Praxis relativ einfach durchzuführendes Mapping<sup>14</sup> der Vaskularisation etabliert werden, wobei zwischen dem regionalen zerebralen Blutvolumen CBV und der regionalen Tumorgefäß-Permeabilität P unterschieden wird. Es soll überprüft werden, ob kernspintomographisch als 'wachstumsaktiv' eingestufte Tumoreale *in vivo* mit der Histologie *in vitro* zu korrelieren sind.

---

<sup>14</sup> Mapping: Kartenverzeichnis oder Kartierung