

# 2

## Biologische Grundlagen

In diesem Kapitel werden die wichtigsten biologischen Begriffe sowie Prozesse aufgeführt und kurz beschrieben. Es soll ein Grundverständnis über die Hintergründe von Hirntumoren vermittelt werden, insbesondere des Glioblastoms, dem Tumor, der in dieser Arbeit hauptsächlich betrachtet wird. Dem interessierten Leser sei zur vertiefenden Lektüre [4, 163, 189, 216] empfohlen. Zunächst werden die Tumoren des zentralen Nervensystems zusammengefasst (Abschnitt 2.1), anschließend werden Entwicklung, Umgebung und Mechanismen des Glioblastoms näher erläutert (Abschnitt 2.2). Als ein wichtiger Bestandteil der Tumorprogression wird das Immunsystem eingeführt (Abschnitt 2.3) und abschließend werden unterschiedliche biologische Experimente vorgestellt (Abschnitt 2.4).

### 2.1. Tumoren des ZNS

Das Zentralnervensystem (ZNS), bestehend aus dem Gehirn und dem Rückenmark, beinhaltet zwei große Zellpopulationen: Nervenzellen (Neuronen) und Gliazellen. Letztere werden in zwei Hauptuntergruppen unterteilt, Makroglia- und Mikrogliazellen. Die Makrogliazellen werden wiederum in mehrere Zellarten eingeteilt und haben unterschiedliche Funktionen. Die Mikrogliazellen, auch nach ihrem Entdecker Hirtogazellen genannt, stellen die residenten (ansässigen) inflammatorischen Zellen (Makrophagen) des ZNS dar.

Obwohl nur zwei Prozent der diagnostizierten Krebserkrankungen Tumoren des Zentralnervensystems darstellen, repräsentieren sie die zweithäufigste Todesursache aller Tumore des Zentralen Nervensystems. Der Begriff primärer Hirntumor bezeichnet Geschwülste, die direkt vom Gehirn oder den umgebenden Hirnhäuten ausgehen. Primäre ZNS-Tumoren sind, nach der Leukämie, mit etwa 23 % die zweithäufigsten Krebser-

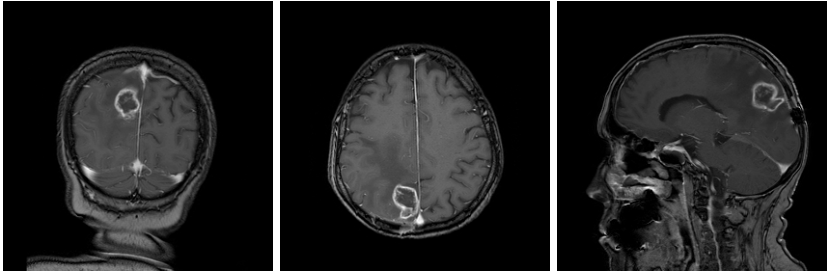


Abb. 2.1.: T1-gewichtete MR-Aufnahme einer Patientin mit Glioblastom am rechten occipitales Marklager (v.l.n.r.: Koronalebene, Transversalebene, Sagittalebene).

krankungen im Kindes- und Jugendalter mit circa 410 Neuerkrankungen pro Jahr. Es gibt viele Arten dieser Tumoren, wobei meist aber nur zwischen niedrigmalignen Gliomen (wie z.B. Astrozytome, Gangliome, Oligodendrogliome) und hochmalignen Gliomen (wie z.B. Glioblastom, anaplastisches Astrozytom, Medulloblastom) unterschieden wird, wobei die Bösartigkeit der Tumoren (Malignität) die Erkrankung kennzeichnet.

## 2.2. Glioblastom

Das Glioblastom (GBM, frühere Bezeichnung: Glioblastoma multiforme) ist der häufigste maligne hirneigene Tumor bei Erwachsenen. Eine Magnetresonanztomographie, die wie die Computertomographie-Aufnahme die Ausdehnung der Tumormasse darstellt, ist in Abb. 2.1 gezeigt.

Das Glioblastom gehört zur Gruppe der Gliome. Diese Gruppe wird je nach Ursprungsgewebe weiter unterteilt in eine astrozytäre, eine oligodendrozytäre und eine ependymale Reihe sowie Mischformen hieraus. Nach der derzeit gültigen WHO-Klassifikation (WHO: World Health Organization) für intrakranielle Tumoren, werden die Gliome zusammen mit den anderen Tumoren neuronaler Herkunft unter dem Überbegriff „Tumoren des neuroepithelialen Gewebes“ zusammengefasst. In der histologischen Gradierung werden niedrigmaligne Gliome (WHO Grad I und II) von der anaplastischen Form (WHO Grad III) und vom hochmalignen Glioblastom, das einem WHO Grad IV entspricht [120], abgegrenzt. Die wichtigsten Unterscheidungskriterien sind die Anordnung und Größe der Zellen und Zellkerne [53], sowie die flächenhafte Nekrose und die hohe Proliferationsrate. Außerdem wird eine sogenannte „bunte Schnittfläche“ mit Zysten, Blutungen und Tumorerfallshöhlen gefunden, die dem Tumor auch die Bezeichnung Glioblastoma multiforme eingebracht hat. Eine beispielhafte mikroskopische Aufnahme eines GBM ist in Abb. 2.2 dargestellt.

Unbehandelt hat das Glioblastom eine schlechte Prognose und führt innerhalb weniger Wochen zum Tod. Derzeitiger Standard bei der Behandlung eines Glioblastoms

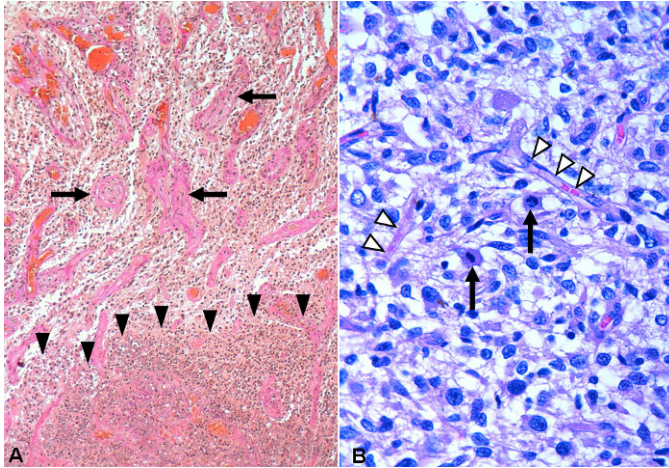


Abb. 2.2.: Glioblastoma (mikroskopische Aufnahme): **A** Ein zellreiches Tumorgewebe mit charakteristischer Proliferation mikrovaskulärer Glomeruloide (Pfeile). Unten, nekrotisches Tumorgewebe (Pfeilköpfe) (Färbungsmethode: Elastica van Gieson, x100). **B** (Tumor Detail) Ein zellreicher und pleomorpher Tumor, zu beachten ist die Variation der Kerngröße. Mehrere Mitosen sind erkennbar (Pfeile), sowie ein dichtes, feingliedriges Kapillarnetz (Pfeilköpfe) (Färbungsmethode: Hämatoxylin-Eosin, x400).

ist die möglichst vollständige Resektion des kontrastmittelaufnehmenden Tumors mit nachfolgender Strahlentherapie und konkomitanter sowie adjuvanter Therapie mit Temozolomid, einem neuen Imidazotetrazin-Derivat. Unter dieser kombinierten Behandlung wird eine Steigerung der 2-Jahres-Überlebensrate auf 26 % im Vergleich zu 10 % bei alleiniger Strahlentherapie erreicht. Die mittlere Überlebenszeit beträgt 12 - 18 Monate [45, 90, 124, 154, 178].

### 2.2.1. Entwicklungsstadien

Ausgangspunkt in der Krebsentstehung ist eine irreversible Änderung (Mutation) im Erbgut (Genom), was als Tumorigenese bezeichnet wird. Es existieren zwei Wege, die zum GBM führen. Einerseits kann sich das GBM aus niedriggradigen Astrozytomen über Jahre entwickeln (sekundär), andererseits kann es die anfängliche Pathologie bei der Diagnose darstellen (primär). Letztere neigen dazu, Verstärkung des EGF-Rezeptors (Abkürzung für engl. Epidermal Growth Factor Receptor), Deletionen im INK4a-Gen mit dem Verlust von p14 und p16, und diploiden Zellen zu zeigen. Sekundäre GBM entstehen aus Vorläuferzellen vorwiegend durch p53 Mutationen und Überexpression

von PDGF (Abkürzung für engl. Platelet-Derived Growth Factor) [33, 131].

Diese genetischen Mutationen fördern das Wachstum der Zellen durch Entwicklung von Krebsgenen und erlauben somit eine unbegrenzte Zellteilung [28]. Weiterhin wird Apoptose verhindert, d.h. eine Inaktivierung von Tumorsuppressoren. Demzufolge breiten sich die Zellen aus und formen einen lokalen Krebs; dieses Stadium wird als avaskuläres Wachstum bezeichnet. Der Durchmesser des Tumors liegt in dieser Entwicklungsstufe zwischen 1-3 mm [83, 149, 160, 161].

Tumoren benötigen eine ausreichende Versorgung mit Sauerstoff und weiteren Nährstoffen, um wachsen zu können. Dieser Bedarf kann bei schnell wachsenden Tumoren, wie Gliomen, nicht mehr durch Diffusion aus dem umgebenden Gewebe bzw. aus Blutgefäßen gedeckt werden. Folglich senden Tumoren Tumor-angiogenetische Wachstumsfaktoren (TAF) aus [213]. Als das wichtigste Signalmolekül gilt VEGF (Abkürzung für engl. Vascular Endothelial Growth Factor). Neue, kleine Blutgefäße, überwiegend durch Sprossung aus einem vorgebildeten Kapillarsystem, werden gebildet. Nach diesem Prozess, der als Angiogenese (z.B. [83, 84, 149]) bezeichnet wird, versetzt sich der Tumor in das vaskuläre Wachstum. Die Zellen sind nun mit ausreichend Nährstoffen versorgt und invadieren das gesunde, umliegende Gewebe. Durch Eindringen in die Kapillaren, können Tochtergeschwülste (Metastasen) entstehen.

Eine detaillierte Beschreibung der Umgebung sowie der einzelnen Prozesse werden in den nachfolgenden Abschnitten 2.2.2 bzw. 2.2.3 beschrieben.

### 2.2.2. Tumor-Mikroumgebung

In der Umgebung eines Hirntumors gibt es viele Bestandteile: andere Zellen, die extrazelluläre Matrix, Proteine, Chemikalien und Blutgefäße. Jedoch beeinflusst nicht jeder dieser Faktoren das Wachstum der Tumoren. Werden die nicht-tumorösen Zellen betrachtet, sind Astrozyten ein gutes Beispiel für Zellen, die wirkungslos gegenüber dem Tumorwachstum sind. Wird andererseits die Mikrogliazellen betrachtet, welche die residenten Makrophagen des zentralen Nervensystems darstellen, werden erhebliche Veränderungen der Tumoren sichtbar (vgl. Abschnitt 2.3).

Die extrazelluläre Matrix (EZM) wird von Zellen produziert und ist ein sehr wichtiger Bestandteil der Mikroumgebung der Tumorzellen. Sie besteht aus Proteinen und kleinen Fasersträngen, Lamininen, Fibronectinen und Kollagen [132]. Um ein besseres Bild zu bekommen, kann die EZM zu „Alles-was-zwischen-den-Zellen-ist“ zusammengefasst werden. Die Matrix ist für die Zell-Zell und Zell-Matrix Aktionen verantwortlich. Ein weiterer Bestandteil der EZM sind die Fibroblasten. Deren Produkte sorgen für eine erhöhte Festigkeit der extrazellulären Matrix, denn Schädigungen des Gewebes stimulieren die Zellteilung der Fibroblasten. Des Weiteren gibt es in der Mikroumgebung viele Wachstumsfaktoren, sogenannte Chemokine und Zytokine sowie Chemikalien wie z.B. Nährstoffe. Letztere bestehen wiederum aus Sauerstoff, Glukose, Eisen und stellen einen wichtigen Faktor für das Überleben der Zellen dar. Die Nährstoffe diffundieren aus Blutgefäßen und haben einen direkten Einfluss auf die Wanderung und Zellteilung von Tumorzellen (vgl. Abschnitt 2.2.3). Des Weiteren gibt es Nährstoffe auch in der Gehirn-Rückenmarks-Flüssigkeit (CSF, von engl.: cerebrospinal fluid), die einen essen-

tiellen Nährstofflieferanten des Hirns darstellt [190].

### 2.2.3. Zellmechanismen

Durch spezifische Defekte in Zellmechanismen sowie zunehmende Strukturveränderungen werden Zellen zu Tumorzellen. Die wichtigsten Prozesse in diesem Zusammenhang, die einen großen Einfluss auf das Tumorwachstum haben, sind die Zellwanderung (Migration) und die Zellteilung (Proliferation). Erst durch deren gemeinsames Auftreten führen Funktionsverluste und weitere negative Eigenschaften der Tumorzellen zu einem bösartigen Tumorwachstum oder sogar zu Krebs. Die Prozesse werden in den nachfolgenden Abschnitten vorgestellt.

#### 2.2.3.1. Migration

Grundsätzlich kann die Migration in die Einzelzellmigration (individuell) und in die kollektive Migration, bei der Zellen adhäsive Bindungen (Anziehungskräfte) entwickeln, um Zellhaufen (Cluster) zu formen, unterteilt werden. Bei der individuellen Zellmigration kann weiterhin zwischen amöboider und mesenchymaler unterschieden werden [86, 87]. Bei der amöboiden Bewegung wird die extrazelluläre Matrix als Gerüst benutzt [96]. Es wird Kontakt zu den Fasern hergestellt und die extrazelluläre Matrix wird nicht verändert. Die mesenchymale Zellmigration findet durch die Aussonderung Matrix-degradierender Enzyme (MDE) statt, wie z.B. Matrixmetalloproteinasen (MMP), die zum Abbau (Degradation) der EZM führt, um Raum für die Bewegung zu schaffen. Dieser Prozess wird auch als lokale Invasion bezeichnet [73].

Durch den Verlust von Adhäsionsmolekülen auf der Zelloberfläche (vgl. Abschnitt 2.2.3.4) bei malignen Tumorzellen [219], wird der Kontakt unter den Tumorzellen und der Zusammenhalt des Tumorgewebes gelockert [73], sodass die Gliomzellen überwiegend die individuelle Migration erfahren. Welche Bewegung genau vollzogen wird, hängt von der Umgebung ab. Wird von Zellen gesprochen, die sich in der weißen Substanz befinden, dann migrieren sie entlang von Myelin, was einer Ausbreitung im Gehirn entlang von Markscheiden der Nervenfasern entspricht [91, 92, 194]. Diese Ausbreitung ist eine amöboide Bewegung [50]. Bei Tumoren in der grauen Hirnsubstanz wird von einer isotropen Ausbreitung (in alle Richtungen gleiche Eigenschaften) ausgegangen, was wiederum mit der mesenchymalen Bewegung übereinstimmt. In diesem Fall fungiert die EZM als Barriere. Durch andere Adhäsionsmoleküle (unter anderem Integrine) heften sich Tumorzellen an die extrazelluläre Matrix an und wandern in normales Gewebe ein. Gliomzellen bewegen sich viel und infiltrieren sehr früh das gesunde Gewebe des ZNS. Es wurde gezeigt, dass Gliomzellen sogar in Folge von Sauerstoffmangel (Hypoxie) ein invasiveres Verhalten aufzeigen (vgl. Abschnitt 6.2).

#### 2.2.3.2. Proliferation

Ein deregulierter Zellzyklus führt zu kontinuierlicher Zellteilung und Tumorwachstum. Dabei erfahren GBM-Zellen eine viel schnellere Proliferation als andere Tumorzellen

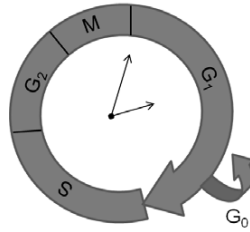


Abb. 2.3.: Schema des Zellzyklus einer Zelle.

[131]. Dadurch wächst der Tumor sehr schnell, was seine Bösartigkeit unterstreicht.

Vielfache Wachstumsfaktoren und Wachstumsfaktoren-Rezeptoren wie bFGF (Abkürzung für engl. basic fibroblast growth factor), EGF-R (Abkürzung für engl. epidermal growth factor receptor) und TGF- $\alpha$  (Abkürzung für engl. transforming growth factor- $\alpha$ ) sowie PDGF-A und PDGF-B (Abkürzung für engl. platelet-derived growth factor A- und B-Kette) und deren Rezeptor PDGFRP sind in ZNS-Tumoren präsent. In [213] wurde durch Immunhistologien herausgefunden, dass der Grad des Tumors mit der Anzahl von Wachstumsfaktoren zusammenhängt, d.h. je maligner ein Tumor, desto mehr Wachstumsfaktoren und Rezeptoren sind vorhanden. Diese Faktoren stimulieren die Proliferation von Gliomzellen, dadurch werden die Zellen zu schnellerer Teilung angeregt. Der Zellzyklus verläuft in vier unterschiedlichen Phasen (vgl. Abb. 2.3). Die erste ist die G<sub>1</sub>-Phase (Interphase, G steht für Lücke, aus engl. gap) gefolgt von der S-Phase (DNS-Synthesephase). Hier wird die DNS-Helix verdoppelt. In dem darauffolgenden Intervall, der G<sub>2</sub>-Phase, wächst die Zelle und wird auf die Zellteilung vorbereitet. Anschließend gelangt die Zelle in die M-Phase, die Mitose, in der sich der Zellkern teilt. Die Zellteilung wird im Anschluss beendet und die hervorgegangenen Tochterzellen befinden sich nun wieder in der G<sub>1</sub>-Phase. Darüber hinaus kann sich eine Zelle in einem ruhenden Zustand befinden. Diese Phase ist die G<sub>0</sub>-Phase und erfolgt reversibel aus der G<sub>1</sub>-Phase (vgl. Abb. 2.3). Der dauerhafte Ausstieg einer Zelle aus dem Zellzyklus kann nur durch den Tod der Zelle verursacht werden. Insgesamt dauert der Zellzyklus einer gesunden Zelle, je nach Zelltyp, zwischen 24 und 30 Stunden, die einzelnen Zellphasen nehmen unterschiedliche Zeitspannen in Anspruch. Während die Dauer der zwei Gap-Phasen G<sub>1</sub> und G<sub>2</sub> sehr variabel ist, weisen die M- und S-Phase eine relativ konstante Länge auf. Die Mitose benötigt etwa eine Stunde und die S-Phase 6 bis 8 Stunden [107]. Die G<sub>1</sub>-Phase beträgt ungefähr die Hälfte der gesamten Zellzyklusdauer.

Bei malignen Tumorzellen verkürzt sich die Länge für eine Zellteilung erheblich. Die Proliferation ist eine der wichtigsten Eigenschaften von Tumorzellen, die unterdrückt werden müssen.

### 2.2.3.3. Zelltod

Grundsätzlich werden zwei Hauptformen des Zelltods unterschieden: Nekrose und Apoptose. Bei der Nekrose schwillt die Zelle an, anschließend wird die Plasmamembran zerstört und es kommt zur Fragmentierung und Auflösung des Zellkerns und zu Entzündungen. Dies ist ein unumkehrbarer Prozess, d.h. die Zelle kann nach einem nekrotischen Zustand nicht mehr leben [114, 133]. Die Ursachen, die zu einer Nekrose führen können, sind äußerer Natur wie z.B. eine Inflammation, chemische Faktoren wie Sauerstoffmangel oder toxische Substanzen. Bei der Apoptose handelt es sich hingegen um den programmierten Zelltod. Dieser ist genetisch kontrollierbar und hat einen vorhersehbaren und vorbestimmten Verlauf [27, 114]. Dies kann von außen (Immunzellen) oder durch zellinterne Prozesse angeregt werden. Morphologisch kennzeichnet sich die Apoptose durch Schrumpfen der Zelle. Deren Überreste werden durch Phagozytose abgebaut.

Invasive Gliomzellen sind resistent gegen Apoptose [73, 91], um die Zellüberlebensfähigkeit zu begünstigen bzw. zu fördern. Zudem ist in [51] durch In-vitro-Experimente bewiesen worden, dass Apoptose in GBM supprimiert ist. Ein wichtiger Faktor sind die Matrixmetalloproteinasen (MMP), die die Apoptose unterdrücken [153, 189]. Demzufolge tritt gerade bei hochgradigen Tumoren, wie beim Glioblastom, vermehrt Nekrose auf [27].

### 2.2.3.4. Adhäsion

Zelladhäsionsmoleküle (ZAM) sind eine Klasse von Proteinen, die die Kontakte zwischen Zellen in einem Gewebe vermitteln. Sie ermöglichen den Zusammenhalt von Geweben und die Kommunikation zwischen den Zellen. Letzteres wird auch als Zell-Zell-Adhäsion bezeichnet und wird in Cadherine und neuronale Zelladhäsionsmoleküle (NZAM) eingeteilt. Die Zell-Matrix-Adhäsion bezieht sich auf Verbindungen, die durch Integrine (in der Zellmembran verankerte Proteine) hergestellt werden und zwischen Zellen und der extrazellulären Matrix wirken. Cadherine sind ZAMs die Zell-Zell-Adhäsionen vermitteln [212]. Sie sind für das fingerförmige Wachstum von mehreren Tumorentitäten verantwortlich und wurden bereits in der Literatur diskutiert (z.B. [47, 167]). Diese Zell-Zell-Interaktionen finden in GBM sehr vermindert statt, nur wenige sind überhaupt feststellbar. Die neuronalen Zelladhäsionsmoleküle in aggressiven Gliomen sind unterexprimiert [219].

## 2.3. Das Immunsystem

Das Immunsystem unterscheidet spezifisch körpereigene Zellen von fremden Strukturen und löst eine adäquate Immunantwort aus. Es entwickelt ein immunologisches Gedächtnis, um besser und schneller reagieren zu können. Einige Funktionen des Immunsystems sind angeboren, andere werden erworben. Beide Systeme sind in ihrer Arbeitsweise eng miteinander verzahnt und übernehmen unterschiedliche Aufgaben. Die angeborene Immunität ist kontinuierlich in Bereitschaft und in den ersten Tagen nach einer Infektion

wird der Erreger abgewehrt. Nach Erreichen eines Schwellenwertes wird die erworbene Immunantwort, auch adaptive Immunantwort genannt, induziert.

### 2.3.1. Das Immunsystem außerhalb des Hirns

Die angeborene Immunität besteht aus mehreren Zellen, wie den lokalen Abwehrzellen, Makrophagen (auch mit  $M_\phi$  abgekürzt) und den dendritischen Zellen. Ebenso gehören die natürlichen Killerzellen (NK), T-Zellen ( $\gamma - \delta$ ), Zytokine (lösliche Botenstoffe), Neutrophilen (Fresszellen) und Eosinophilen zum angeborenen Immunsystem. B-Lymphozyten, CD 4(+) und CD 8(+) T-Lymphozyten gehören zu dem adaptiven Immunsystem [15].

### 2.3.2. Das Immunsystem im Hirn

Da nur Mikrogliazellen (MG) im Gehirn voll kompetent immunologisch wirken, stellen sie die Makrophagen des Gehirns dar. Sie machen ca. 10 – 20 % aller Zellen des zentralen Nervensystems aus [152, 162]. MG sind noch nicht vollständig erforscht und die zugrunde liegenden Prozesse noch nicht komplett verstanden [111]. Die MG tauchen zunächst ausschließlich resident (rMG, ruhend) auf [174]. Erst durch das Auftreten einer Läsion, einer Infektion bzw. eines Tumors werden die MG aktiviert und als amöboid (aMG) bezeichnet. Dies ist nicht zu verwechseln mit der amöboiden Bewegung aus Abschnitt 2.2.3.1. Die Aktivierung geschieht durch Stimulation von Zytokinen (z.B. TGF- $\beta$ , MCP-1, G-CSF), die vom Tumor, insbesondere Gliomzellen, ausgesendet werden [88, 95] und als Chemoattraktanten für die MG wirken.

Im ruhenden Zustand proliferiert eine MG sehr langsam [88] und bewegt sich viel aufgrund ihres plastischen Charakters, legt aber keine weiten Wege zurück. Im amöboiden Zustand dagegen proliferieren sie öfter [88] und die MG migrieren in Richtung der höheren Tumor-Signalkonzentration. Außerdem exprimieren sie Faktoren, die die Matrix-Metalloproteasen (MMPs) aktivieren. Damit kann die extrazelluläre Matrix noch schneller abgebaut werden, was die Tumorzellen invasiver macht [95, 152, 220], d.h. sie helfen dem Tumor sogar schneller und weiter zu migrieren. Darüber hinaus sind Mikrogliazellen, die in Gliomen eindringen, inkompetent eine T-Zell Stimulation und die adaptive Immunität zu induzieren [111, 166]. Außerdem können aktivierte MG zwei unterschiedliche Phänotypen aufweisen: Einen gegen den Tumor und einen der sich positiv auf das Tumorwachstum auswirkt (z.B. [88, 189]). Der erstgenannte ist ein inflammatorischer Phänotyp, der auch mit M1 bezeichnet wird. Hier werden die MG klassisch aktiviert und senden Faktoren aus wie z.B. IL-1, TNF (Tumornekrosefaktor). Der M2 Phänotyp ist antiinflammatorisch und wird alternativ aktiviert gefördert durch IL-4 und IL-13 und sondert Faktoren ab wie IL-10 und TGF. M2 ist dominant in bösartigen Tumoren [30]. Darüber hinaus besagt [162], dass die Mikroumgebung die Makrophagen erziehen ein M2-ähnliches Erscheinungsbild anzunehmen. Ein Wechsel zwischen den zwei Phänotypen von MG ist während des Tumorwachstums sehr präsent [30]. In [166] wurde gezeigt, dass Makrophagen in-vitro und in-vivo (s. Abschnitt 2.4 für die Bedeutung der Begriffe) ihre funktionale Charakteristik schnell ändern können.



## 2.4. Experimente

Bei biologischen Untersuchungsexperimenten wird nach der Umgebungsart unterschieden. Laufen die Prozesse im lebendigen Organismus ab, so werden sie *in-vivo* genannt. Werden Zellen, Gewebe oder anderes lebendes biologisches Material aus einem lebenden Organismus entnommen und in einer präparierten meist kontrollierten, vereinfachten Umgebung eingeführt, so wird von *ex-vivo* gesprochen. Ist diese Umgebung eine Umgebung, wo das Material natürlich auftritt, sind die Experimente *in-situ*. *Ex-situ* ist das Gegenteil. Zudem gibt es noch einen weiteren Versuchsaufbau, der bei Biologen sehr beliebt ist. Dieser nennt sich *in-vitro* und bezeichnet die Experimente, die außerhalb von lebenden Organismen stattfinden. Hierzu zählen auch die Zellkulturen.

Alexis Carrel, ein französischer Chirurg und Nobelpreisträger in Medizin (1912), hat im Jahre 1913 bewiesen, dass Zellen länger in Zellkultur wachsen können, sofern sie gefüttert und aseptisch gehalten werden [40, 41]. Damit war der erste große Schritt in Richtung Zeitexperimente in Zellkulturen gemacht. Seitdem ist es Standard, Prozesse unter kontrollierten Bedingungen in Laboren zu untersuchen. Es gibt unterschiedliche Arten von Zellkulturen. Zum einen gibt es Zelllinien: Diese transformieren spontan (Tumor) oder durch Transfektion mit einem Virus, außerdem ist eine große Menge nötig, die im Fall von Tumorzellen auch zu multizellulärer Tumorsphäroide führen kann. Dies sind kugelförmige Tumorzellaggregate, die eine 3D Umgebung darstellen. Zum anderen existieren primäre Zellkulturen, die aus frischem Gewebe präpariert werden. Für ein In-vitro-Experiment wird auch ein Zellkulturmedium benötigt, dieses enthält essentielle Substanzen für das Wachstum und die Proliferation. Je nach Art der Untersuchungen, werden Zusätze wie z.B. Lipopolysaccharidlösung (LPS) zum Zweck der Stimulation hinzugefügt. Zuletzt gibt es noch Experimente *in-silico*. Dies sind Simulationen natürlicher Vorgänge im Computer. Die Realisierung solcher Simulationen geschieht meist mittels mathematischer Modellierungsansätze (vgl. Abschnitt 3).

Modellierung zellulärer Gliomwachstumsprozesse in  
ihrer Mikroumgebung

Toma, A.

2014, XV, 161 S. 57 Abb., 25 Abb. in Farbe., Softcover

ISBN: 978-3-658-04683-5