



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Die Rolle des mikrovaskulären Endothels bei der
Permeabilitätsregulierung der Blut-Hirn-Schranke und der
Metastasierung ins Gehirn**

Autor: Frank Thomas Mayer
Institut / Klinik: Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Doktorvater: Prof. Dr. S. W. Schneider

Das maligne Melanom als Tumorerkrankung mit einer hohen Metastasierungsrate ins Gehirn geht in diesem Stadium mit einer hohen Mortalität, sowie einem hohen Risiko für das Auftreten von thromboembolischen Ereignissen einher. Hierauf stützt sich die Annahme, dass der von Willebrand Faktor (VWF) als Schlüsselprotein der Gerinnung die tumorassoziierte Thrombosierung mediert und zusätzlich die Metastasierung ins Gehirn fördert. Vorarbeiten zeigten, dass Melanomzellen in der Lage sind, über Thrombin und Vascular Endothelial Growth Factor-A (VEGF-A) das vaskuläre Endothel zu aktivieren, gefolgt von einer luminalen Freisetzung des gerinnungsassoziierten Glykoproteins VWF. Der VWF bildet hochadhäsive Fäden aus, die Thrombozyten effizient binden. Dadurch kommt es zu Gefäßthrombosierungen und einer verstärkten Metastasierung in die Lunge. Der Einfluss des VWF auf die Hirnmetastasierung ist aufgrund des speziellen Aufbaus des Endothels der Blut-Hirn-Schranke (BHS) jedoch noch unklar.

Daher untersuchten wir in dieser Arbeit die Rolle des VWF bei der Metastasierung ins Gehirn. Mit Immunfluoreszenzfärbungen wurde im Vergleich zu makrovaskulären Endothelzellen in zerebralen mikrovaskulären Endothelzellen *in vitro* intrazellulär deutlich weniger VWF detektiert. Dem entsprechend entstanden nach Stimulation mikrovaskulärer Endothelzellen mit Tumorzellüberstand luminal weniger VWF-Fäden. *In vivo* war mittels Immunfluoreszenzfärbungen in den Gefäßwänden im Gehirn von Wildtyp Mäusen eine VWF-Verteilung abhängig vom Gefäßdurchmesser festzustellen. Das VWF-Signal war in kleinen Gefäßen deutlich geringer. Luminal konnten kaum VWF-Fäden detektiert werden. Ein gegensätzliches Bild zeigte sich in Tieren des *ret*-transgenen Mausmodell, welches sich durch eine spontane Entstehung von Melanomen mit nachfolgender Metastasierung auszeichnet. Hier waren luminal eine ausgeprägte VWF-Fadenformierung und Thrombozytenaggregation in den Hirnmetastasen zu sehen. VWF-medierte Thrombozytenaggregate und Mikrothrombosierungen ließen sich bereits vor dem Auftreten von Hirnmetastasen als Indiz für eine beginnende Metastasierung detektieren. Anschließend wurde der Einfluss verschiedener Gerinnungshemmer auf die Permeabilität einer mikrovaskulären zerebralen Endothelzellschicht nach Stimulation mit Tumorzellüberstand mittels Impedanzanalyse, sowie auf die transendotheliale Migration von Melanomzellen mit einem Transmigrationsassay untersucht. Das niedermolekulare Heparin (NMH) Tinzaparin, das eine Bindestelle für VEGF-A aufweist, hemmte sowohl die tumorzellinduzierte Permeabilitätssteigerung, als auch die Transmigration von Melanomzellen in gleichem Ausmaß wie der VEGF-A Antikörper Bevacizumab. Im *ret*-transgenen Mausmodell konnte nachfolgend die VWF-vermittelte Thrombozytenaggregation in zerebralen Gefäßen durch Tinzaparin reduziert werden. Im abschließenden Tierversuch erbrachte eine tägliche Tinzaparin-Behandlung zwar eine Überlebensverlängerung, jedoch konnte die Ausprägung der Hirnmetastasierung nicht signifikant reduziert werden. Allerdings zeigte sich in einer weiteren Versuchsreihe, dass Tinzaparin behandelte Mäuse nach 60 Tagen keine Hirnmetastasen aufweisen im Gegensatz zu 40% in den Kontrolltieren. In dieser Studie konnten Mechanismen dargestellt werden, über die VWF die tumorinduzierte zerebrale Thrombosierung und Metastasierung fördert. Durch Hemmung der VWF-Fadenbildung und Reduktion der vaskulären Permeabilität stellen NMH eine nebenwirkungsarme Therapie für Tumorpatienten mit hohem Risiko für thromboembolische Ereignisse und Hirnmetastasen dar.