

Stella Judith Marianne Soyka

Dr. med.

Characterization of glioblastoma cell invasion within the gray and white matter via multi-photon microscopy

Fach: Anatomie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Thomas Kuner

In dieser Arbeit wird Multiphotonenmikroskopie angewandt, um das Invasionsverhalten von Glioblastomzellen im Cortex und insbesondere im Corpus Callosum, einer Struktur der weißen Substanz und die größte Interhemisphären-Kommissur, zu untersuchen. Zum einen werden zwei Untergruppen von Glioblastomzellen im Cortex gezeigt, die sich grundlegend in ihrem Invasions- und Konnektivitätsverhalten unterscheiden. Durch einen korrelativen Lichtmikroskopie-Elektronenmikroskopie Ansatz konnte bewiesen werden, dass auch invasive, nicht zu anderen Tumorzellen oder Astrozyten konnektierte Glioblastomzellen neuronalen synaptischen Input erhalten. In weiteren Experimenten wurde gezeigt, dass die ausgebildeten Synapsen zu invasiven Glioblastomzellen häufig transient sind.

Zudem wird ein Workflow vorgestellt, der es ermöglicht, Glioblastomzellen in der weißen Substanz dynamisch im lebenden Maushirn zu untersuchen. Dies war bislang nicht möglich, da herkömmliche Zwei-Photonenmikroskopie aufgrund von Streuung und *Out-of-focus*-Fluoreszenz in Tumor-Mausmodellen nur eine Eindringtiefe von max. 700 µm erreicht und sich somit auf den Cortex beschränkt.

Es werden Zwei- und Drei-Photonenmikroskopie (letztere in Kombination mit adaptiver Optik) sowie Postprozessierung im Sinne von speziell für die erhobenen Daten entwickeltem Entrauschen und Machine Learning angewandt, um Glioblastomzellen in ihrer Tumor-Mikroumgebung des Corpus Callosum bis auf subzellulärer Ebene dynamisch darzustellen.

Dadurch konnten spezifische Blutgefäß-abhängige Invasionsverhalten gezeigt werden. Erstens wird beschrieben, dass einzelne Glioblastomzellen Blutgefäße verwenden, um in die dichte Faserstruktur des Corpus Callosum einzudringen. Zweitens konnte gezeigt werden, dass perivaskuläre Invasion im Corpus Callosum den Zellen erlaubt, die eigentlich durch die Myelinfasern vorgegebene Invasionsrichtung zu umgehen. Drittens wird ein Mechanismus vorgestellt, bei dem Glioblastomzellen Blutgefäße als Anker verwenden, um in deren Richtung zu invadieren. Diese

Mechanismen ähneln dem Verhalten von astrozytären und oligodendrozytären Vorläuferzellen in der Entwicklung des Nervensystems.

Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass die drei aus der neuronalen Entwicklung bekannten Invasionsmechanismen, wie zuvor für Glioblastomzellen im Cortex gezeigt, auch in der weißen Substanz eine Rolle spielen. Interessanterweise findet signifikant weniger Invasion durch Verzweigung der Glioblastom-Zellfortsätze im Corpus Callosum statt als im Cortex, was auf eine zielgerichtetere Invasion hindeutet. Alle Ergebnisse wurden in zwei unterschiedlichen Patienten-abgeleiteten Xenotransplantat-Mausmodellen durchgeführt, um zelllinienspezifisches Verhalten auszuschließen.

Der Fokus dieser Arbeit lag darin, neue Methoden zu adaptieren, um relevante Fragen der Neuroonkologie und der Krebs-Neurowissenschaften (*Cancer Neuroscience*) zu beantworten, welche den reziproken Einfluss zwischen Nervensystem und Tumorentwicklung untersucht. Hierdurch konnten insbesondere Erkenntnisse über das Invasionsverhalten der Glioblastomzellen gewonnen werden. In Zukunft sollen umfangreiche Erkenntnisse über die Tumorentwicklung und das Zellverhalten dazu führen, dass neue Therapieansätze entwickelt werden können und die Lebensqualität und Prognose von Glioblastom-Patient*innen verbessert werden können.