

## Durchblutung und Sauerstoffverbrauch gewebisolierter Impftumoren (DS-Carcinosarkom) in vivo\*

W. SCHWARZ, V. SCHULZ, M. KERSTEN, R. WÖRZ, P. VAUPEL

Physiologisches Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz  
(Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Thews)

Eingegangen am 22. Mai 1970, angenommen am 15. September 1970

### *Blood flow and Oxygen Consumption of Tissue-Isolated Tumors (DS-Carcinosarcoma) in Vivo*

*Summary.* Using the method described by Gullino and Grantham (1961), we implanted cells of DS-carcinosarcoma into rat kidneys where they were maintained as "tissue-isolated". After an average of 11 days the infiltrating and destructively growing tumor replaced the kidney tissue almost completely. The tumor-kidney mass was connected with the host by only a single artery and vein.

The determination of tumor blood-flow was made, keeping the pressure constant, after cannulating the tumor vein with the help of a burette by means of a roller pump and an air-regulator. At the same time micro blood samples from the tumor vein and the aorta were taken under anaerobic conditions to determine pH,  $pO_2$ ,  $pCO_2$ , Hb-concentration and hematocrit. By calculating the arterio-venous difference in oxygen content and the tumor blood-flow we were able to determine oxygen consumption of the implanted tumors in vivo. The average blood-flow of 27 measurements in 16 tumors was  $\dot{Q} = 6.4$  ml/100 g/min and the utilization of oxygen was  $\dot{V}O_2 = 0.5$  ml $O_2$ /100 g/min. An explanation for the relatively high venous  $PO_2$  is offered by a dextroposition of the oxygen dissociation curve, by pH-lowering, by  $pCO_2$ -increase and anemia as well as especially by the small oxygen utilization of the tumor cells themselves. Under in vivo conditions the small blood-flow of the tumor may be the limiting factor in the oxygen supply of the tumor.

*Zusammenfassung.* Nach einer von Gullino u. Grantham (1961) angegebenen Methode wurden DS-Carcino-Sarkomzellen in Rattennieren verimpft und gewebisoliert gezüchtet. Nach im Mittel 11 Tagen hat der infiltrierend und destruiierend wachsende Tumor das Nierengewebe meist völlig ersetzt und steht mit dem Wirtstier nur über eine Arterie und eine Vene in Verbindung. Die Tumordurchblutungsmessungen erfolgten nach Kanulierung der Tumorvene druckkonstant mit Hilfe eines Rollenpumpen-Windkessel-Systems über eine Meßcapillare. Gleichzeitig konnten Mikroblutproben unter Luftabschluß aus Tumorvene und Aorta entnommen und pH,  $O_2$ -Druck,  $CO_2$ -Druck, Hb-Konzentration und Hämatokrit bestimmt werden. Aus der errechneten arterio-venösen  $O_2$ -Differenz und der Tumordurchblutung ließ sich der Sauerstoffverbrauch der Impftumoren in vivo bestimmen. Als Mittelwerte von 27 Messungen an 16 Tumoren ergab sich für die Durchblutung  $\dot{Q} = 6,4$  ml Blut/100 g/min und für den Sauerstoffverbrauch  $\dot{V}O_2 = 0,50$  ml  $O_2$ /100 g/min. Als ursächlich für den relativ hohen mittleren Sauerstoffpartialdruck im venösen Blut werden eine Rechtsverlagerung der Sauerstoffbindungskurve durch pH-Erniedrigung,  $CO_2$ -Druckerhöhung und Anämie sowie vor allem der geringe Sauerstoffverbrauch der Tumorzellen angesehen. Unter in vivo-Bedingungen ist die geringe Tumordurchblutung als möglicherweise limitierender Faktor der Sauerstoffversorgung des Tumors anzunehmen.

Durchblutung und Sauerstoffverbrauch von Tumoren sind klinisch und pathophysiologisch von Interesse. Die Größe der Tumordurchblutung ist einerseits

\* Mit Unterstützung durch die Landesversicherungsanstalt Rheinland-Pfalz Speyer/Rh.

pharmakologisch von Bedeutung, da Cytostatica in schlecht durchbluteten Tumoralen wahrscheinlich keine therapeutisch wirksamen Konzentrationen erreichen. Von radiologischer Seite wurde andererseits berichtet, daß die Strahlenempfindlichkeit von Tumoren von der zur Zeit der Bestrahlung im Gewebe gelösten Sauerstoffmenge abhängig ist (Atkins u. Mitarb., 1965; Cater u. Silver, 1960; Gray u. Mitarb., 1953; Howard-Flanders u. Scott, 1960). Eine Bestrahlung tumorkranker Patienten bei gleichzeitiger hyperbarer Oxygenation ist daher wiederholt durchgeführt worden (Churchill-Davidson, 1964; Hultborn u. Forssberg, 1954; Seaman u. Mitarb., 1961; Wildermuth, 1966).

Sauerstoffdruckwerte in Tumoren unter Normoxie und Sauerstoffüberdruckbeatmung konnten mit Hilfe größerer Einstichelektroden von zahlreichen Autoren gemessen werden (u. a.: Cater u. Mitarb., 1962; Evans, 1963; Jamieson u. van den Brenk, 1963, 1965; Kruuv u. Mitarb., 1967; Urbach, 1956).

Sauerstoffverbrauchsmessungen von Tumorgewebsschnitten wurden erstmals von Warburg u. Minami (1923) mit Hilfe der bekannten manometrischen Technik Warburgs *in vitro* und seither von zahlreichen Untersuchern durchgeführt. Dagegen liegen Ergebnisse über direkte Messungen des Sauerstoffverbrauches wachsender Tumoren *in vivo* unseres Wissens bislang nur von Gullino u. Mitarb. (1967) vor.

Voraussetzung zur Lösung der Frage nach dem O<sub>2</sub>-Verbrauch ist ein Tumor, der gewebisoliert wächst, und dessen Verbindung mit dem Wirtstier nur über eine Arterie und eine Vene erfolgt. Diese Bedingungen erfüllt eine von Gullino u. Grantham (1961) angegebene Methode zur Züchtung gewebisolierter Tumoren in Nieren und Ovarien von Kleintieren. Hierdurch ist es möglich, Durchblutung und Sauerstoffverbrauch von Tumoren neben zahlreichen anderen Parametern des Tumorvenenblutes gleichzeitig *in situ* zu erfassen.

## Methodik

### I. Tumorzüchtung

Als Versuchstiere dienten männliche und weibliche Albino-Ratten (Sprague-Dawley, Stamm F. W. 49 Biberach) mit einem mittleren Körpergewicht von 325 g. Konventionelle Haltung und Fütterung mit Altromin-Trockenfutter *ad libitum*.

Als Impftumoren verwandten wir das DS-Carcinosarkom der Ratte, das im Ascites von Tumorträgeratten gezüchtet und nach 5—6 Tagen in die linke Niere der Versuchstiere verimpft wurde.

Vor Übertragung des Tumors wurden die Ratten mit Inactin® (60 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal) narkotisiert, die linke Niere mit dem etwas längeren Gefäßstiel durch einen 1—2 cm langen seitlichen Lendenschnitt freigelegt und Niere und Nierengefäßstiel von perirenalem Fett isoliert. Anschließend erfolgte Verlagerung der linken Niere in eine vorbereitete große subcutane Tasche des Tieres und schonender Verschluß der Muskellücke um den Gefäßstiel.

Um ein gewebisoliertes Tumorstadium zu erreichen, wurde ein sanduhrförmig zugeschnittenes Stück Parafilm „M“ mit einem Einschnitt bis zur Mitte einer Hälfte um den Gefäßstiel gelegt und die beiden sich überlappenden Schnittkanten verschweißt, so daß die Niere wie in einem Trichter lag und nur der Gefäßstiel durch den kurzen Trichterhals hindurchtrat.

Mit Hilfe einer Tuberkulinspritze und einer Kanüle Nr. 20 wurde 0,1—0,15 ml Ascitesflüssigkeit mit DS-Carcinosarkomzellen (etwa 10<sup>5</sup> Zellen/ $\mu$ l) an verschiedenen Stellen in das Nierenparenchym des Wirtstieres injiziert und der Stichkanal mit einem Wundkleber rasch abgedichtet, um ein Ausfließen von Blut und Tumorzellen zu verhindern. Schließlich wurde

der Parafilm-Beutel über der tumorbeimpften Niere verschlossen und ebenfalls in die vorbereitete subcutane Tasche des Tieres verlagert. Der Cutisverschluß erfolgte durch Wundklammern.

II. Versuchsdurchführung

Nach durchschnittlich 11 Tagen war die Niere des Wirtstieres durch den infiltrierend und destruiierend gewachsenen Impftumor meist völlig ersetzt.

Jetzt wurden die Tiere erneut mit Inactin® (60 mg/kg Körpergewicht) narkotisiert und mit Liquemin® (300 I.E./kg Körpergewicht) heparinisiert.

Nach Oberbauchquerschnitt (Abb. 1) wurde der Tumorgefäßstiel freigelegt, alle in die Tumornebene mündenden Gefäße unterbunden und die Tumornebene mit einem PVC-Schlauch kanuliert.

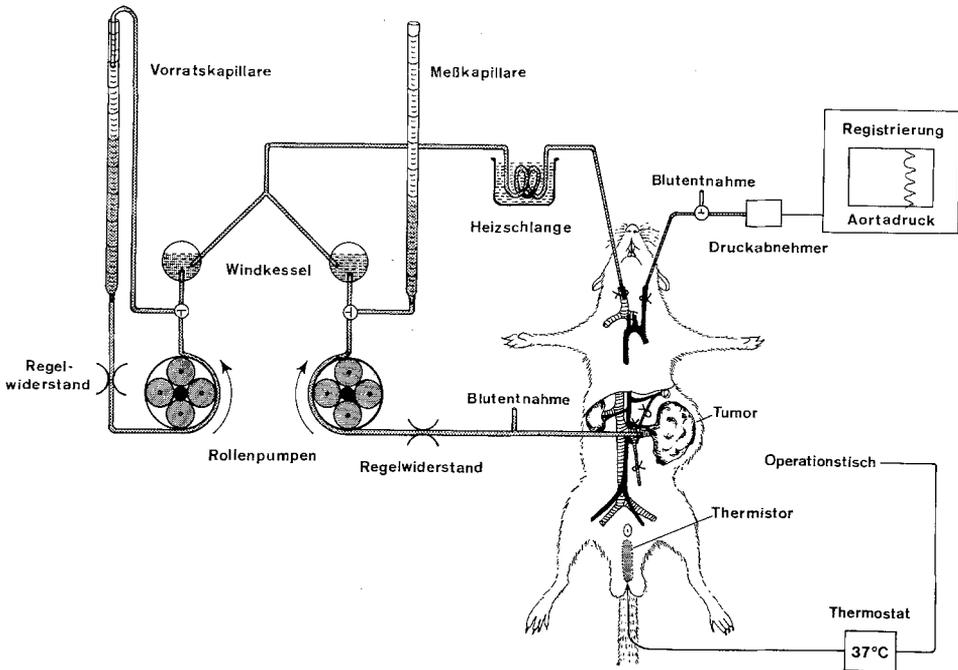


Abb. 1. Schematische Darstellung der Versuchsanordnung zur Bestimmung der Durchblutung und des Sauerstoffverbrauches von „gewebisolierten“ Impftumoren in vivo

Das aus der Tumornebene ausfließende Blut wurde druckkonstant über eine Rollenpumpe, einen Windkessel sowie über eine Heizschlange dem Tier über eine Vena jugularis wieder zugeführt. Der tumorvenöse Blutstrom konnte durch Änderung der Pumpengeschwindigkeit und über einen regelbaren Widerstand dem venösen Angebot entsprechend eingestellt und durch die Höhe der Blutsäule in einem offenen T-Rohr direkt hinter der kanulierten Tumornebene auf Werte um 2—4 mm Blutsäule druckkonstant gehalten werden.

Die Bestimmung der Tumordurchblutung erfolgte bei konstanten Durchblutungsverhältnissen frühestens 10 min nach Kanulierung der Tumornebene durch Umstellen eines Dreiweghahnes und Ablesung über eine geeichte Meßcapillare. Die Dauer der Durchblutungsmessung betrug jeweils 30 oder 60 sec.

Um den Blutdruck des Tieres und damit die Durchblutung des Tumors während der Meßperioden konstant zu halten, wurde über eine graduierte Vorratscapillare und ein zweites Rollenpumpen-Windkessel-System die jeweils aus dem Meßsystem entnommene Blutmenge dem Tier als Fremdblut wieder zugeführt.

Die Kerntemperatur des Versuchstieres konnte über einen heizbaren Operationstisch mit Regelvorrichtung zur Konstanthaltung der Körpertemperatur auf 37° C rectal eingestellt werden (Waldeck, 1969).

Der arterielle Blutdruck wurde nach Einbinden eines PVC-Schlauches in die Aorta über eine A. carotis der Ratte mit Hilfe eines Druckwandlers (Statham strain gage), eines Trägerfrequenzverstärkers (Sanborn, Type 305 — 110 B) sowie eines Kompensations-Linienschreibers (Servogor, Metrawatt) fortlaufend aufgezeichnet.

Die tumor-venösen Blutentnahmen erfolgten unter Luftabschluß über ein T-Glasrohr direkt hinter der kanulierten Tumorumene (s. o.); arterielles Blut konnte ebenfalls unter anaeroben Bedingungen mit Hilfe von Mikrocapillaren (130  $\mu$ l Volumen) aus der Aorta über einen kurzen PVC-Schlauch entnommen werden. Die Bestimmungen von  $P_{O_2}$ ,  $P_{CO_2}$  und pH erfolgten aus Mikrobloodproben mit einem Gasanalysator.

Der Hämoglobingehalt des Blutes wurde nach der Cyanhämoglobinmethode photometrisch gemessen, der Hämatokrit des Blutes mit einer Mikrozentrifuge bestimmt.

Mit Hilfe der gemessenen Sauerstoffpartialdrucke, des pH, sowie des Hämoglobingehaltes konnte der Sauerstoffgehalt in den Blutproben unter Berücksichtigung des Verlaufes der aktuellen Sauerstoffbindungskurve des Blutes von Albinoratten bei 37° C berechnet werden (Gahlenbeck, persönliche Mitteilung; Severinghaus, 1966).

Aus Tumordurchblutung  $\dot{Q}_{Tu}$  und arterio-venöser Sauerstoffdifferenz  $AVD_{O_2}$  ließ sich der jeweilige Sauerstoffverbrauch des Tumors errechnen.

Nach Versuchsende wurde das Tumorgefechtgewicht bestimmt. Später erfolgte die histologische Untersuchung der Tumoren nach Routinemethoden.

### Ergebnisse

Die folgenden Versuchsergebnisse repräsentieren jeweils die Mittelwerte aus drei aufeinanderfolgenden Messungen der Tumordurchblutung und drei arteriellen sowie tumor-venösen Blutgasanalysen.

Im Säulendiagramm der Abb. 2 sind die Mittelwerte der arteriellen (gepunktete Säulen) und tumor-venösen (gestrichelte Säulen) Blutgasanalysen von 27 Messungen an 16 Ratten sowie die mittleren Fehler der Mittelwerte  $s_{\bar{x}}$  wiedergegeben.

Der mittlere arterielle Sauerstoffpartialdruck ( $P_{O_2}$ ) der Versuchstiere betrug 79,8 mm Hg bei einer Sauerstoffsättigung ( $S_{O_2}$ ) des Blutes von 87,4 Sättg.-%. Die tumor-venösen Sauerstoffdruck- und Sauerstoffsättigungswerte waren mit 40,1 mm Hg bzw. 42,3 Sättg.-% auf etwa die Hälfte der arteriell gemessenen Werte vermindert (vgl. auch Tabelle).

Der mittlere tumor-venöse Kohlendioxidpartialdruck ( $P_{CO_2}$ ) von 57,3 mm Hg lag etwa 19 mm Hg über dem mittleren arteriellen  $P_{CO_2}$ -Wert, den wir zu 38,4 mm Hg bestimmten.

Der pH-Wert im Tumorvenenblut von durchschnittlich 7,18 war um etwa 0,12 Einheiten gegenüber dem arteriell gemessenen Wert deutlich erniedrigt.

Der Hämatokrit (HK) des Blutes (s. Tabelle) war mit 34,5% arteriell und 36% venös, gegenüber gesunden Versuchstieren ebenfalls deutlich gesenkt.

Die Tumordurchblutung ( $\dot{Q}_{Tu}$ ) betrug im Mittel 6,4 ml Blut/100 g Tumorgefechtgewebe/min; die arterio-venöse Sauerstoffdifferenz ( $AVD_{O_2}$ ) errechnete sich zu durchschnittlich 7,36 Vol.-%  $O_2$ . Für den Sauerstoffverbrauch ( $\dot{V}_{O_2}$ ) des Tumors ergab sich ein mittlerer Wert von 0,5 ml  $O_2$ /100 g Tumorgefechtgewebe/min.

Bei 16 Albino-Ratten (mittleres Körpergewicht 325 g; mittleres Tumorgefechtgewicht 7,1 g nach durchschnittlichem Tumoralter von 11 Tagen) registrierten wir einen mittleren arteriellen Blutdruck von 84 mm Hg.

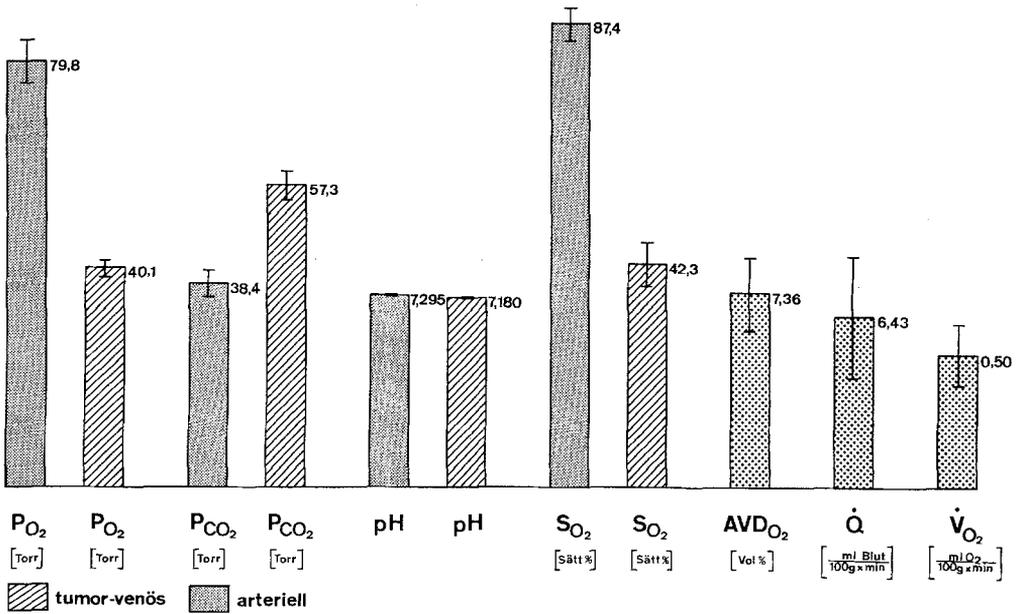


Abb. 2. Mittelwerte  $\bar{x}$  und mittlere Fehler der Mittelwerte  $s_{\bar{x}}$  von 27 Einzelmessungen aus dem arteriellen und tumor-venösen Blut von 16 Albinoratten mit „gewebisolierten“ Impftumoren

Tabelle. Mittelwerte  $\bar{x}$ , Standardabweichungen  $s_x$  und mittlere Fehler der Mittelwerte  $s_{\bar{x}}$  von 27 Einzelmessungen aus dem arteriellen und tumor-venösen Blut von 16 Albino-Ratten mit „gewebisolierten“ Impftumoren

Wert	Dimension	$\bar{x}$	( $\pm$ ) $s_x$	( $\pm$ ) $s_{\bar{x}}$
HK <sub>art.</sub>	%	33,5	3,0	2,4
HK <sub>Tu.</sub>	%	36,4	3,6	1,1
Hb <sub>art.</sub>	g-%	11,61	2,00	0,50
Hb <sub>Tu.</sub>	g-%	11,54	2,12	0,53
$P_{O_2,art.}$	mm Hg	79,8	16,2	4,1
$P_{O_2,Tu.}$	mm Hg	40,1	10,1	2,5
$P_{CO_2,art.}$	mm Hg	38,4	10,0	2,5
$P_{CO_2,Tu.}$	mm Hg	57,3	10,3	2,6
pH <sub>art.</sub>	—	7,295	0,127	0,032
pH <sub>Tu.</sub>	—	7,180	0,105	0,024
$S_{O_2,art.}$	Sätt.-%	87,4	12,1	3,0
$S_{O_2,Tu.}$	Sätt.-%	42,3	16,9	4,2
$\dot{Q}_{Tu.}$	$\frac{ml\ Blut}{100\ g\ Gewebe \times min}$	6,43	4,60	1,15
$AVD_{O_2}$	Vol.-%	7,36	2,71	0,68
$\dot{V}_{O_2,Tu.}$	$\frac{ml\ O_2}{100\ g\ Gewebe \times min}$	0,50	0,47	0,12

### Diskussion

Nach einer von Gullino u. Grantham (1961) angegebenen Methode läßt sich ein Impftumor der Rattenniere züchten, bei dem eine Tumorausbreitung per continuitatem durch einen Parafilm-Mantel verhindert werden kann. Der Tumor wächst somit „gewebsisoliert“ und steht mit dem Wirtstier nur über eine Arterie und eine Vene in Verbindung, so daß die gleichzeitige Erfassung von Durchblutung und Sauerstoffverbrauch des Tumors *in situ* sowie Bestimmung der anderen aufgeführten Parameter möglich ist.

Das von uns verwandte DS-Carcinosarkom der Rattenniere war meist von kugelig oder eiförmiger Gestalt, von mittlerer Konsistenz und von meist weißlicher oder rot-bräunlicher Farbe (vgl. Abb. 3). Neben hämorrhagischen Bezirken fanden sich bei allen von uns untersuchten Tumoren niemals größere zentrale Nekrosen (vgl. Gullino u. Grantham, 1961).



Abb. 3. Impftumor der Rattenniere im Vergleich zur kontralateralen Niere

Voraussetzung für die Messungen ist eine völlige Zerstörung des Nierengewebes durch den Impftumor, der durch sein infiltrierendes und destruierendes Wachstum die Niere bei angegebener Technik in durchschnittlich 11 Tagen meist völlig ersetzt.

Wie Gullino u. Grantham (1961) zeigen konnten, lassen sich auch in großen Impftumoren der Niere häufig noch vereinzelte unzerstörte Nierenbezirke feingeweblich nachweisen. So fanden wir in histologischen Serienschnitten mancher Tumoren beispielsweise morphologisch intakte Glomeruli, die von Tumorzellen völlig ummauert waren (Abb. 4 u. 5). Bei kleinen Tumoren wird daher sicherlich Durchblutung und Sauerstoffverbrauch von Nierenrest und Tumor gemessen. Ergebnisse von Tumoren, bei denen sich feingeweblich noch größere Nierenbezirke nachweisen lassen, mußten daher verworfen werden.

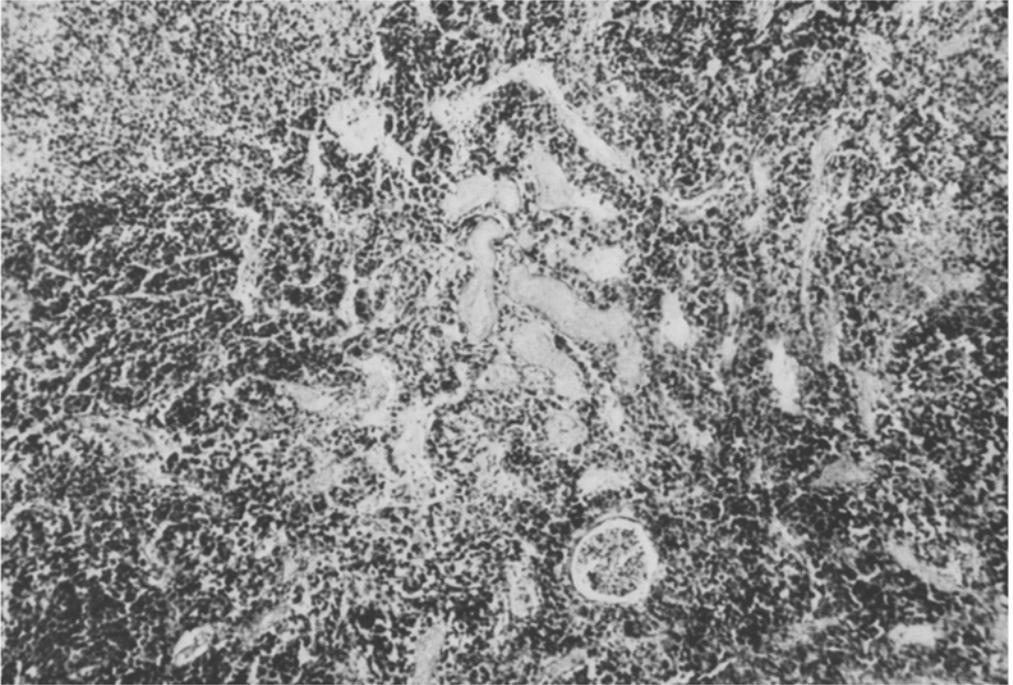


Abb. 4. Histologisches Bild eines „gewebsisolierten“ Impftumors (DS-Carcinosarkom) der Rattenniere. Das Nierenparenchym ist fast vollständig durch Tumorgewebe ersetzt

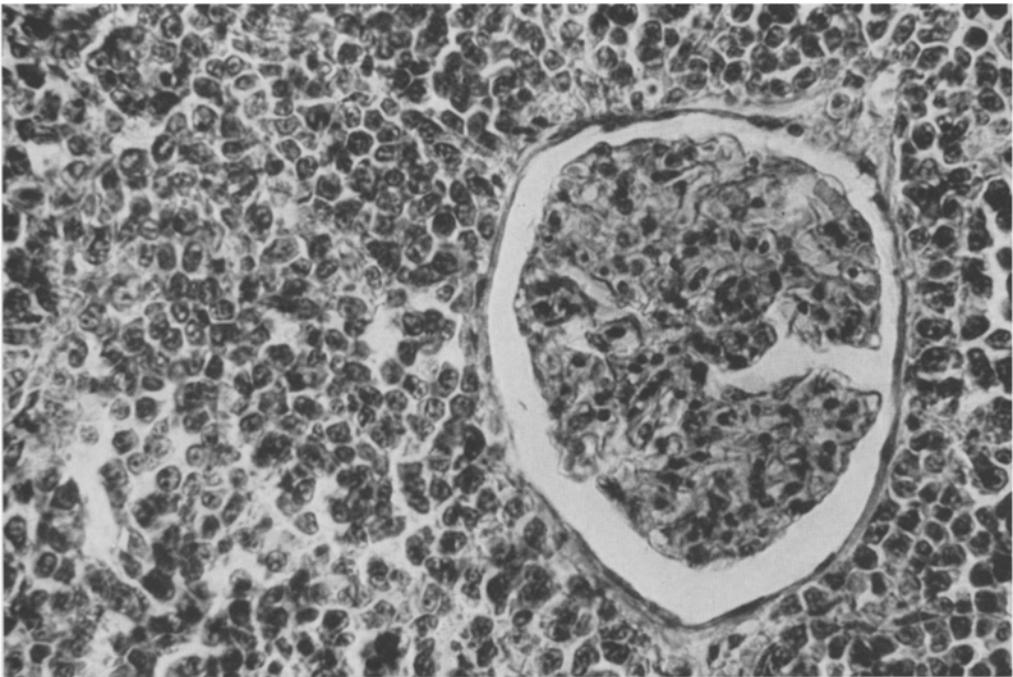


Abb. 5. Isolierter Glomerulus der Rattenniere, von infiltrierend und destruiierend gewachsenen DS-Carcinosarkomzellen „eingemauert“

Dem Tumorwachstum wird insofern eine Grenze gesetzt, als sehr große Tumoren nicht mehr „gewebsisoliert“ gehalten werden können, da sie meist über den Tumorgefäßstiel mit der Umgebung verwachsen. Das mittlere Tumorgewicht betrug bei unseren Versuchstieren 7,1 g; das Nierenfeuchtgewicht von Kontrolltieren dagegen vergleichsweise nur 1,0–1,5 g.

Weitere Voraussetzungen für die Sauerstoffverbrauchsmessungen von Tumoren nach angegebener Technik sind: eine relativ flache Narkose (geringe Atemdepression), rasches, gewebsschonendes chirurgisches Vorgehen zur Vermeidung eines Operationsschocks, Konstanthaltung der Temperatur des Trägartieres (heizbarer Operationstisch mit Regelvorrichtung) und des Tumors (Messungen bei uneröffneter subcutaner Tasche, in welcher der Tumor wächst), Konstanz von Blutdruck (fortlaufende Registrierung des arteriellen Mitteldruckes) und der Tumordurchblutung während der Meßperioden (druckkonstante Durchblutungsmessung über offenes T-Steigrohr), Blutentnahme unter Luftabschluß und sofortige Blutgasanalyse sowie Vermeidung von Blutverlusten des Versuchstieres durch gleichzeitige Gabe äquivalenter Mengen von Fremdblut (über ein zweites Rollenpumpen-Windkessel-System). Eine wesentliche Hb-Änderung durch Ersatz des entnommenen Blutes durch Fremdblut, eine nennenswerte Hämolyse durch das Rollenpumpen-Windkessel-System sowie ein meßbares Tumorwachstum traten während der kurzen Meßperioden nicht auf.

Versuchstiere mit Impftumoren zeigten schon nach wenigen Tagen eine deutliche Gewichtsabnahme, die in unseren Versuchen mit einem Abfall des mittleren arteriellen Blutdruckes auf durchschnittlich 84 mm Hg – im Vergleich zu gesunden Versuchstieren mit etwa 100 mm Hg –, einer Senkung des Hämatokrits von normalerweise 46% auf 34% und des Hämoglobins von 14,4 g-% auf Werte um 11,6 g-% einhergingen (Schulz u. Müller, 1962; und eigene Messungen).

Der tumor-venöse pH war mit 7,180 um etwa 0,12 Einheiten gegenüber dem arteriell zu 7,295 bestimmten pH-Wert erniedrigt. Der pH gesunder Versuchstiere beträgt vergleichsweise 7,35 (Schulz u. Müller, 1962). Wie von zahlreichen Autoren nachgewiesen wurde, ist als Ursache dieser pH-Erniedrigung im Tumorvenenblut in erster Linie die für neoplastisches Gewebe typische Milchsäurebildung bei der anaeroben Glykolyse anzusehen (Greenstein, 1954). Zu einer pH-Erniedrigung führt andererseits auch die Erhöhung des mittleren  $P_{CO_2}$ -Wertes im Tumorvenenblut. So bestand zwischen arteriellem und tumor-venösem Kohlensäuredruck in unseren Versuchen eine durchschnittliche Partialdruckdifferenz von 19 mm Hg. Diese entspricht Ergebnissen von Gullino u. Mitarb. (1965) bei  $P_{CO_2}$ -Messungen im arteriellen Blut und der interstitiellen Flüssigkeit von Tumoren, welche in Mikroporenfilterkammern als Implantationstumoren bei Ratten gewachsen waren ( $P_{CO_2}$ -Differenz von 16–39 mm Hg).

Durch Zunahme des Kohlensäurepartialdruckes sowie pH-Erniedrigung im Tumorvenenblut, verstärkt durch die gleichzeitig bestehende Anämie der Versuchstiere, kommt es zu einer Rechtsverlagerung der Sauerstoffbindungskurve, d. h. zu einer Abnahme der Sauerstoffaffinität des Blutes. Durch diesen als Bohr-Effekt bekannten Mechanismus werden die Bedingungen für die  $O_2$ -Abgabe ins Gewebe begünstigt, da der  $O_2$ -Druckabfall in den Gewebescapillaren verringert und dadurch der für die  $O_2$ -Diffusion in das Gewebe maßgebende capilläre  $O_2$ -Druck auf einem höheren Wert gehalten wird.

Trotz einer relativ hohen  $O_2$ -Ausschöpfung des Blutes bei einer mittleren arterio-venösen  $O_2$ -Sättigungsdifferenz von 52% war der  $O_2$ -Partialdruck im Tumoren-venenblut mit 40 mm Hg bei den Tumortieren daher erwartungsgemäß noch relativ hoch.

Von anderen Autoren wurden mit Hilfe größerer Einstichelektroden in verschiedenen Tumoren unter Normoxiebedingungen niedrigere mittlere Gewebs- $P_{O_2}$ -Werte registriert (Evans, 1963; Jamieson u. van den Brenk, 1963). Ursache hierfür dürfte der starke  $O_2$ -Druckabfall zwischen Capillare und Gewebe, das regelmäßige Fehlen größerer zentraler Nekrosen bei allen von uns untersuchten „gewebsisolierten“ Impftumoren sowie eine Gewebsschädigung mit Begleitödem und der Sauerstoffverbrauch durch größere  $O_2$ -Einstichelektroden sein (Cater u. Mitarb., 1960; Evans u. Naylor, 1960, Jamieson u. van den Brenk, 1965).

Weitere Ursachen für die relativ hohen  $O_2$ -Partialdruckwerte im Tumoren-venenblut, auf die wir im einzelnen näher eingehen wollen, könnten theoretisch eine hohe Tumordurchblutung, ein geringer  $O_2$ -Verbrauch der Tumorzellen oder größere arterio-venöse Shunts sein.

Der oben geschilderten verringerten Sauerstoffkapazität des Blutes unserer Tumorratten entspricht die hohe arterio-venöse Sauerstoffsättigungsdifferenz von 52% bzw.  $AVD_{O_2}$  von im Mittel 7,36 Vol.-%. Einer bei weiterem Abfall des tumor-venösen Sauerstoffpartialdruckes evtl. drohenden venösen Hypoxie kann der Tumor offenbar jedoch nicht, wie Versuche mit geringen tumorvenösen Sauerstoffpartialdrücken zeigten, durch eine wesentliche Mehrdurchblutung begegnen.

Die von uns gemessene Tumordurchblutung  $Q_{Tu}$  von im Mittel 6,4 ml Blut/100 g/min ist gering, insbesondere im Vergleich zu Durchblutungswerten anderer Organe.

So beträgt beispielsweise die Durchblutung der Niere 200–600 ml Blut/100 g/min (Kramer u. Deetjen, 1960), der Leber 130 ml Blut/100 g/min (Selkurt, 1953), des Gehirns etwa 80 ml Blut/100 g/min (Grote u. Kreuzer, 1967) das Herzens in körperlicher Ruhe dagegen nur etwa 1–3 ml Blut/100 g/min (Siegenthaler, 1970).

Unsere Ergebnisse entsprechen andererseits Meßdaten, die auch Gullino u. Grantham (1961) mit einer direkten Durchblutungsmessung an 12 verschiedenen „gewebsisolierten“ Impftumoren der Niere und des Ovars von unterschiedlich raschem Wachstum bei gleicher Tumorgewichtsklasse erhielten, nämlich 0,1 bis 0,2 ml Blut/Std./mg  $N_2$  oder umgerechnet 4–8 ml Blut/100 g/min.

Die Befunde einer geringen Tumordurchblutung werden weiterhin bestätigt durch Ergebnisse anderer Autoren bei indirekten Absolutmessungen der Tumordurchblutung mit Hilfe radioaktiver Isotope (Cataland u. Mitarb., 1962; Wollmann u. Reed, 1963; Gullino u. Grantham, 1961; Gump u. White, 1968).

In Tumoren scheint eine Gefäßerweiterung und bessere Capillarisation, d. h. die Vergrößerung der Austauschfläche und Verkürzung der Diffusionsstrecke, eine weit größere Rolle für den Sauerstoffaustausch zwischen Blut und Gewebe zu spielen, als eine Steigerung der Durchblutung. So konnten Gullino u. Grantham (1962) zeigen, daß Impftumoren nach angegebener Technik die Hauptgefäße des Wirtsorganes als Versorgungsgefäße übernehmen, wobei es weniger zu einer Zunahme der Anzahl, als der Länge und des Querschnittes der Tumorgefäße kommt. Für obige Annahme sprechen auch die Befunde anderer Autoren, welche eine reichliche Capillarisation vieler Tumoren im histologischen Schnittpräparat

beobachteten (Cater, 1964; Rubin u. Casarett, 1966). Erst wenn durch Zunahme der Tumorgewebsmasse, besonders in schnell wachsenden Tumoren, die Capillarisation mit dem raschen Tumorwachstum nicht mehr Schritt halten kann, kommt es wahrscheinlich, weiterhin begünstigt durch Kompression der Tumorgefäße durch die Tumorzellen, zu örtlicher Mangelversorgung des Gewebes. Entsprechende Untersuchungen über die Sauerstoffabgabebedingungen in Tumorgeweben werden z. Z. von uns durchgeführt.

Als weitere Erklärung für die relativ hohen Sauerstoffpartialdruckwerte im Tumorvenenblut kann schließlich der sehr geringe Sauerstoffverbrauch der Impftumoren mit durchschnittlich 0,5 ml O<sub>2</sub>/100 g/min bei unseren Versuchen herangezogen werden. Vergleichsweise beträgt der Sauerstoffverbrauch stoffwechselaktiver Gewebe wie des Herzens bei körperlicher Ruhe 10 ml O<sub>2</sub>/100 g/min (Bing, 1951), der Niere 3–9 ml O<sub>2</sub>/100 g/min (Kramer u. Deetjen, 1960), des Gehirns 5,15 ml O<sub>2</sub>/100 g/min (Grote u. Kreuzer, 1967), der Leber 4,5 ml O<sub>2</sub>/100 g/min (Meyers u. Hickam, 1948), des Skelettmuskels in Ruhe dagegen nur 0,2 ml O<sub>2</sub>/100 g/min (Asmussen u. Mitarb., 1939).

Messungen des Sauerstoffverbrauchs „gewebsisolierter“ Tumoren von Ratten durch Gullino u. Mitarb. (1967) mit Hilfe einer direkten Durchblutungsmessung (Blutaspiration aus der Tumorrvene in eine 2 ml Spritze über eine Meßperiode von 1–2 min) sowie einer volumetrischen Blutgasanalyse ergaben O<sub>2</sub>-Verbrauchswerte (in  $\mu$ l O<sub>2</sub>/Std/mg Tumortrockengewicht) von 1,0 für das Fibrosarkom, von 3,3 für das Walker-Carcinom und von 5,3 für das Hepatom in Rattenovarien. Der Sauerstoffverbrauch des von uns verwandten DS-Carcinosarkoms in Rattennieren betrug nach Umrechnung (bei Annahme eines Gewichtsverhältnisses von Feuchtgewicht:Trockengewicht = 1:5) 1,5  $\mu$ l O<sub>2</sub>/Std/mg Trockengewicht; d. h. es bestand eine relativ gute Übereinstimmung mit Werten, die von Gullino u. Mitarb. (1967) beim Fibrosarkom gefunden wurden.

Es kann hierbei nicht entschieden werden, ob Tumorgewebe ganz allgemein nur einen geringen Sauerstoffverbrauch besitzt, oder ob der Sauerstoffbedarf der Tumorzellen aus oben genannten Gründen nicht ausreichend gedeckt werden kann und hierdurch die geringen Sauerstoffverbrauchswerte zu erklären sind. Die Versuche von Gullino u. Mitarb. (1967) zeigten, daß selbst bei reiner Sauerstoffbeatmung der Versuchstiere die O<sub>2</sub>-Aufnahme der Tumoren weiter ansteigt, d. h. eine „Sättigung“ des Sauerstoffverbrauches der Tumoren nicht möglich ist, was eher für ein zu kleines Sauerstoffangebot als für einen zu geringen Sauerstoffverbrauch der Tumorzellen unter in vivo-Bedingungen spricht.

Eine größere arterio-venöse Shuntdurchblutung in Tumoren, wie sie von Bierman u. Mitarb. (1952) zur Erklärung der relativ hohen Sauerstoffpartialdrucke im Tumorvenenblut von Extremitätentumoren des Menschen diskutiert wurde, halten wir zumindest in den von uns untersuchten „gewebsisolierten“ Impftumoren schon aufgrund der niedrigen Tumordurchblutungswerte bei hoher arterio-venöser Sauerstoffsättigungsdifferenz des Blutes für unwahrscheinlich.

Geht man aus von der Annahme, daß der Sauerstoffbedarf der Tumoren in vivo im allgemeinen nicht voll gedeckt werden kann, so lassen sich einige weitere Ergebnisse unserer Messungen erklären.

Kleine Tumoren, bei denen sich Nierengewebe histologisch nicht mehr nachweisen ließ, zeigten im allgemeinen eine höhere auf das Tumorgewicht bezogene

Durchblutung als größere und ältere Tumoren. Gleiche Beobachtungen wurden von Gullino u. Grantham (1961) gemacht.

Es bestand andererseits eine signifikante Korrelation zwischen Sauerstoffverbrauch und Durchblutung der Tumoren (Abb. 6). So zeigten Tumoren mit höherem Sauerstoffverbrauch im allgemeinen auch eine größere Durchblutung; umgekehrt wiesen Tumoren mit geringem Sauerstoffverbrauch meist niedrige Durchblutungswerte auf.

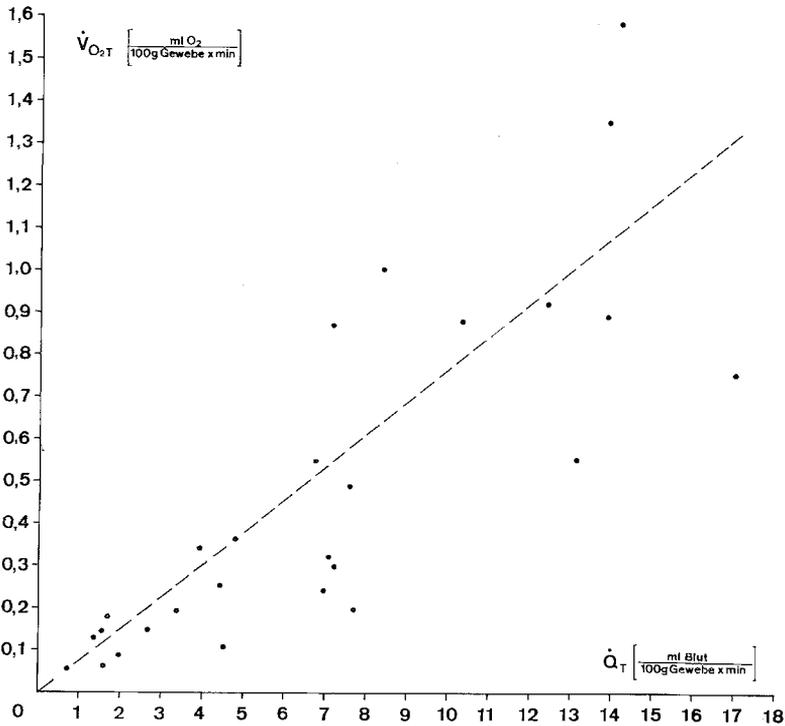


Abb. 6. Beziehung zwischen Sauerstoffaufnahme  $\dot{V}_{O_2}$  und Durchblutung  $\dot{Q}_{Tu}$  „gewebisolierter“ Impftumoren. Ergebnisse von 27 Einzelmessungen an 16 Albinoratten

Es wäre denkbar, daß in kleinen Tumoren der Sauerstoffbedarf durch die vorhandene Durchblutung weitgehend gedeckt werden kann, während bei Größenzunahme des Tumors eine ausreichende Sauerstoffversorgung, z. B. durch lokale Vasokompression oder ungenügende Vascularisierung, nicht mehr in allen Teilen gewährleistet ist. Der Sauerstoffverbrauch muß dann entsprechend der Durchblutungsabnahme des Tumors ebenfalls geringer werden.

Für diese Annahme sprechen weiterhin eine Zunahme der nekrotischen Bezirke in älteren Tumoren sowie die Tatsache, daß bei in vitro-Messungen des Sauerstoffverbrauches von Tumorgewebsschnitten und Homogenisaten, wie sie erstmals 1923 von Warburg u. Minami durchgeführt wurden, wie bereits oben erwähnt meist höhere O<sub>2</sub>-Verbrauchswerte gemessen wurden als in den hier mitgeteilten in vivo-Messungen. Eine Erklärung hierfür wären neben einigen anderen Faktoren, welche

einen direkten Vergleich beider Meßmethoden nicht zulassen, das gegenüber in vivo-Messungen günstigere Sauerstoffangebot in der Warburgschen Apparatur, in welcher die Tumordurchblutung als möglicherweise limitierender Faktor der Sauerstoffversorgung des Tumors in vivo wegfällt.

### Literatur

- Asmussen, E., Christensen, E. H., Nielsen, M.: Die  $O_2$ -Aufnahme der ruhenden und der arbeitenden Skelettmuskeln. *Scand. Arch. Physiol.* **82**, 212 (1939).
- Atkins, H. L., Seaman, W. B., Jacox, H. W., Matteo, R. S.: Experience with hyperbaric oxygenation in clinical radiotherapy. *Amer. J. Roentgenol.* **93**, 651 (1965).
- Bierman, H. R., Kelly, K. H., Singer, G.: Studies of the blood supply of tumours in man. IV. The increased oxygen content of venous blood draining neoplasm. *J. nat. Cancer Inst.* **12**, 701 (1952).
- Bing, R. J.: The coronary circulating in health and disease as studied by coronary sinus catheterization. *Bull. Acad. Med.* **27**, 407 (1951).
- Cataland, S., Cohen, C., Sapirstein, L. A.: Relationship between size and perfusion rate of transplanted tumors. *J. nat. Cancer Inst.* **29**, 389 (1962).
- Cater, D. B.: Oxygen tension in neoplastic tissues. *Tumori* **50**, 435 (1964).
- Silver, I. A.: Quantitative measurements of oxygen tension in normal tissues and in the tumours of patients before and after radiotherapy. *Acta Radiol.* **53**, 233 (1960).
- — Wilson, G. M.: Apparatus and technique for the quantitative measurement of oxygen tension in living tissues. *Proc. roy. Soc. B.* **151**, 256 (1960).
- Schoeninger, E. L., Watkinson, D. A.: Effect on oxygen tension of tumours of breathing oxygen at high pressures. *Lancet* **1962** II, 381.
- Churchill-Davidson, I.: High-pressure oxygen and radiotherapy. *Anglo. German. Med. Rev.* **2**, 519 (1964).
- Evans, N. T. S.: The effect of oxygen breathing and radiotherapy upon the tissue oxygen tension of some human tumours. *Brit. J. Radiol.* **36**, 418 (1963).
- Naylor, P. F. D.: The measurement of partial pressure of oxygen in vivo. *J. Polarogr. Soc.* **2**, 26 (1960).
- Gahlenbeck, H.: Persönliche Mitteilung. *Physiol. Institut der Med. Hochschule Hannover.*
- Gray, L. H., Conger, A. D., Ebert, M., Hornsey, S., Scott, O. C. A.: The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. *Brit. J. Radiol.* **26**, 638 (1953).
- Greenstein, J. Ph.: *Biochemistry of Cancer*. New York: Academic Press 1954.
- Grote, J., Kreuzer, H.: Die Sauerstoffversorgung des Hundehirns. I. Mitteilung: Die cerebrale Durchblutung und Sauerstoffaufnahme. *Zool. Anz.* **179**, 319 (1967).
- Gullino, P. M., Grantham, F. H.: Studies on the exchange of fluids between host and tumor. I. A method for growing "tissue-isolated" tumors in laboratory animals. *J. nat. Cancer Inst.* **27**, 679 (1961).
- — Studies on the exchange of fluids between host and tumor. II. The blood flow of hepatomas and other tumors in rats and mice. *J. nat. Cancer Inst.* **27**, 1465 (1961).
- — Studies on the exchange of fluids between host and tumor. III. Regulation of blood flow in hepatomas and other rat tumors. *J. nat. Cancer Inst.* **28**, 211 (1962).
- — Courtney, A. H.: Utilization of oxygen by transplanted tumors in vivo. *Cancer Res.* **27**, 1020 (1967).
- — Smith, S. H., Haggerty, A. C.: Modifications of the acid-base status of the internal milieu of tumors. *J. nat. Cancer Inst.* **34**, 857 (1965).
- Gump, F. E., White, R. L.: Determination of regional tumor blood flow by Krypton-85. *Cancer* **21**, 871 (1968).
- Howard-Flanders, P., Scott, O. C. A.: Tissue oxygen tension and radiotherapy. *Radiology* **74**, 956 (1960).
- Hultborn, K. A., Forssberg, A. G.: Irradiation of skin tumors during pure oxygen inhalation. *Acta Radiol.* **42**, 475 (1954).

- Jamieson, D., van den Brenk, H. A. S.: Comparison of oxygen tensions in normal tissues and Yoshida sarcoma of the rat breathing air or oxygen at 4 atmospheres. *Brit. J. Cancer* **17**, 70 (1963).
- — Oxygen tension in human malignant disease under hyperbaric conditions. *Brit. J. Cancer* **19**, 139 (1965).
- Kramer, K., Deetjen, P.: Beziehungen des O<sub>2</sub>-Verbrauchs der Niere zu Durchblutung und Glomerulusfiltrat bei Änderung des arteriellen Druckes. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **271**, 782 (1960).
- Kruuv, J., Inch, W. R., McCredie, J. A.: Effects of breathing gases containing oxygen and carbon dioxide at 1 and 3 atmospheres pressures on blood flow and oxygenation of tumors. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **45**, 49 (1967).
- Meyers, J. D., Hickam, J. B.: An estimation of the hepatic flow and splanchnic oxygen consumption in heart failure. *J. clin. Invest.* **27**, 620 (1948).
- Ross, R. S., Ueda, K., Lichtlen, P. R., Rees, J. R.: Measurement of myocardial blood flow in animals and man by selective injection of radioactive inert gas into the coronary arteries. *Circulation Res.* **15**, 28 (1964).
- Rubin, P., Casarett, G.: Microcirculation of tumors. Part 1: Anatomy, function, and necrosis. *Clin. Radiol.* **17**, 220 (1966).
- Schulz, J., Müller, H.: Haemogramm of normal and starved rats. *Nature (Lond.)* **196**, 178 (1962).
- Seaman, W. B., Tapley, N. V., Sanger, C., Jacox, H. W., Atkins, H. L.: Combined high-pressure oxygen and radiation therapy in treatment of human cancer. *Amer. J. Roentgenol.* **85**, 816 (1961).
- Selkurt, E. E.: Validity of the bromsulphthalein (BSP) method for estimating hepatic blood flow. *Amer. J. Physiol.* **175**, 461 (1953).
- Severinghaus, J. W.: Blood gas calculator. *J. appl. Physiol.* **21**, 1108 (1966).
- Siegenthaler, W.: *Klinische Pathophysiologie*. Stuttgart: Georg Thieme 1970.
- Urbach, F.: Pathophysiology of malignacy: I. Tissue oxygen tension of benign and malignant tumors of the skin. *Proc. Soc. exp. Biol.* **92**, 644 (1956).
- Waldeck, F.: Ein heizbarer Operationstisch mit Regelvorrichtung zur Konstanthaltung der Körpertemperatur narkotisierter Kleintiere. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **310**, 189 (1969).
- Warburg, O., Minami, S.: Versuche an überlebendem Carcinomgewebe. *Klin. Wschr.* **17**, 776 (1923).
- Wildermuth, O.: Hyperbaric radiotherapy: some observations in the development of clinical application and technique. *Amer. J. Roentgenol.* **96**, 171 (1966).
- Wollman, S. H., Reed, F. E.: Clearance of blood radioiodide by transplantable tumors of the thyroid gland in the unanaesthetized rat. *J. nat. Cancer Inst.* **31**, 1479 (1963).

Dr. W. Schwarz, Dr. V. Schulz,  
 Dr. M. Kersten, Dr. R. Wörz  
 Dr. P. Vaupel  
 Physiologisches Institut  
 der Johannes Gutenberg-Universität  
 D-6500 Mainz, Saarstraße 21