

Semi Ben Harrabi
Dr. med.

In vitro Untersuchungen zur zeit- und zellzyklusabhängigen Wirkung zweier Chemotherapeutika unterschiedlicher Wirkklassen in Kombination mit dicht ionisierender Kohlenstoffionen- oder Photonenbestrahlung

Promotionsfach: Radiologie
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Klaus-Josef Weber

Für viele Tumorentitäten gehört ein multimodales Behandlungskonzept aus einer kombinierten Radiochemotherapie zum Standard. Eine Erweiterung des Anwendungsbereiches der Schwerionentherapie kann diese Fülle an unterschiedlichen Therapieschemata nicht unberücksichtigt lassen. Die klinische Erfahrung mit Schwerionen ist bislang allerdings noch gering, weswegen es gilt Untersuchungen zur Kombinationswirkung von Chemotherapeutika unterschiedlicher Wirkklassen im hoch-LET-Bereich durchzuführen. In der vorliegenden Arbeit wurden Temozolomid aus der Gruppe der Alkylantien sowie Gemcitabin als Vertreter der Antimetaboliten auf ihre Interaktion mit einer Kohlenstoffionenbestrahlung untersucht.

Dies ist die erste Arbeit, die eine zeitabhängige Wirkung von Temozolomid in Kombination mit einer Bestrahlung mit Kohlenstoffionen untersucht. Hierzu wurde der Applikationszeitpunkt von TMZ relativ zur Bestrahlung variiert. Für die Versuche wurden aus der heterogenen Gruppe der Gliome repräsentativ die Zelllinien LN-18 und LN-229 verwendet. Mittels Western-Blot konnte der unterschiedliche Expressionsstatus hinsichtlich des für den Behandlungserfolg bedeutenden Reparaturenzyms MGMT nachgewiesen werden. Entsprechend deutlich unterschieden sich die für die Kombinationsexperimente ermittelten mittleren letalen Dosen bei einer Monoexposition gegenüber TMZ mit 5,4 μM für LN-229 (MGMT $^{-}$) und 550 μM für LN-18 (MGMT $^{+}$). Die erhobenen Daten ergaben keine Hinweise für ein radiosensibilisierendes Potential. Die additive Toxizität erwies sich als unabhängig vom Zeitpunkt der Administration des Chemotherapeutikums. Mit steigender Bestrahlungsdosis jedoch zeigte sich bei Photonenbestrahlung eine Abnahme der Effektivität beider Modalitäten als Ausdruck subadditiver bzw. antagonistischer Effekte. Am stärksten ausgeprägt war dieser Effekt bei einer prä-radiotherapeutischen Applikation bei LN-18. Durch eine kombinierte Behandlung mit Kohlenstoffionen konnten diese Effekte überwunden werden.

Bei Photonenbestrahlung sind für den Antimetaboliten Gemcitabin ausgeprägte radiosensibilisierende Eigenschaften bekannt, insbesondere während der S-Phase. Die durchgeführten Experimente dienen zur Beurteilung einer möglichen Interaktion der Kohlenstoffionenbestrahlung mit Gemcitabin während der unterschiedlichen Zellzyklusphasen. Mittels 60-stündiger Serumdeprivation wurden Zellen der Linie WIDR synchronisiert. Durchflusszytometrisch bestimmt ergaben sich so teilsynchronisierte Populationen der G1- respektive S-Phase von bis zu 70%. Analog zu den Versuchen mit TMZ

wurde in einem Baseline-Experiment mit alleiniger GEM Applikation steigender Konzentrationen die mittlere letale Dosis für die Kombinationsexperimente bestimmt. Es zeigte sich eine additive Wirkung beider Modalitäten bei behandelten Zellen in der G-Phase. Bei den S-Phase-Populationen jedoch konnte ein supraadditiver Effekt nachgewiesen werden, sodass sich die ursprünglich höhere Überlebensrate der strahlenresistenteren S-Phasen durch eine zusätzliche Gemcitabin-Applikation auf ein mit den strahlensensibleren G-Phasen vergleichbares Niveau reduzieren lässt. Der Einfluss von Gemcitabin bei der Kombinationsbehandlung mit therapeutischen Kohlenstoffionen entspricht dem Befund nach Bestrahlung mit Photonen, es zeigt sich eine komplette Reduktion des Resistenzphänomens als Ausdruck einer supraadditiven Wirkung. Weiterhin konnte – wenngleich in geringerem Ausmaß – auch bei der Kombinationsbehandlung mit ^{12}C -Ionen die Ausprägung einer S-Phasen spezifischen Radioresistenz beobachtet werden.

Zusammenfassend zeigen diese in-vitro Untersuchungen, dass eine Kombination von Kohlenstoffionen und TMZ zu additiver Zytotoxizität führen und der Zeitpunkt der Applikation von untergeordneter Rolle ist. Ebenso zeigen sich bei einer Kombinationsbehandlung mit GEM die gleichen supraadditiven Effekte ohne zusätzliche unerwünschte Interaktionen. Diese Ergebnisse bilden eine wichtige Grundlage für weiterführende klinische Untersuchungen unter Berücksichtigung bereits bestehender Therapieschemata und liefern eine Argumentation, dass eine Dosisanpassung zur Vermeidung potentieller Toxizität nicht notwendig ist. Abgesehen davon zeigten sich die bekannten biologischen und physikalischen Vorteile einer Partikelbestrahlung mit schweren Ionen wie einer erhöhten RBW und Überwindung von zellzyklusspezifischer Radioresistenz.