

Katharina, Christina, Sirit, Antonia Fleckenstein

Dr. med.

### **Kombinationswirkung von Gemcitabin und ionisierender Strahlung in vitro**

Geboren am 16.06.1972 in Frankfurt/Main

Reifeprüfung am 11.06.1991 in Berlin

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1992/93 bis WS 1998/99

Physikum am 17.08.1994 an der Freien Universität Berlin

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Indianapolis, Indiana, USA und in Heidelberg

Staatsexamen am 11.05.1999 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Radiologie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. K. J. Weber

Gemcitabin (2',2'-Difluorodesoxycytidin; dFdCyd) ist ein neuer Pyrimidin-Antimetabolit. Es handelt sich um ein Analogon des natürlichen Nukleosids Desoxycytidin, bei dem am C-Atom 2' der Desoxy-D-Ribose zwei Wasserstoff-Atome durch zwei Fluor-Atome substituiert sind. Zahlreiche klinische Phase I und II Studien haben eine signifikante Anti-Tumor Wirkung von Gemcitabin gegen eine Reihe humaner solider Karzinome bewiesen. Desweiteren wurde über strahlensensibilisierende Eigenschaften von Gemcitabin für eine Kolonkarzinom- und zwei Pankreaskarzinomzelllinien berichtet. Es kam zu maximaler Strahlensensibilisierung, wenn die Zellen am Ende der Gemcitabin Exposition bestrahlt wurden. Hinsichtlich der Wichtigkeit der Zellzyklusposition für die Strahlensensibilität von Zellen war das Ziel der vorliegenden Arbeit die Evaluierung des strahlensensibilisierenden Potentials von Gemcitabin an zwei verschiedenen Zelllinien (V79 Lungenfibroblasten und Widr Kolonkarzinomzellen) innerhalb verschiedener Zellzyklusphasen, insbesondere der strahlenresistenten S-Phase. Als Erweiterung zu früheren Arbeiten von Shewach et al. (1994, 1995, 1996) wurde zusätzlich die

Zeitabhängigkeit der strahlenverstärkenden Wirkung von Gemcitabin relativ zum Bestrahlungszeitpunkt genauer untersucht.

Bei allen Versuchen wurde das klonogene Überleben der Zellen gemessen und zwar nach alleiniger Inkubation mit unterschiedlichen Konzentrationen von Gemcitabin für 2 Stunden, nach alleiniger Bestrahlung mit 2, 4, 6, 8, 10 oder 12 Gy und nach kombinierter Behandlung mit 20ng/ml Gemcitabin für 2 Stunden und Bestrahlung (2-12 Gy). Es wurden Zellpopulationen beider Zelllinien aus Log-Phase Kultur, der G1- und S-Phase untersucht. Log-Phase Zellen wurden entweder in der Mitte, am Ende oder 2 Stunden nach beendeter Gemcitabin Inkubation bestrahlt und synchronisierte Zellen jeweils nur am Ende der 2 stündigen Gemcitabin-Inkubation. Zusätzlich wurde für Log-Phase Zellen das Intervall zwischen Beginn der Gemcitabin-Exposition und der Bestrahlung mit einer konstanten Dosis von 5 Gy von 1 Stunde auf bis zu 10 Stunden variiert.

In Anlehnung an frühere Arbeiten konnte bestätigt werden, daß sich für beide Zelllinien supraadditive Effekte ergaben, wenn die Bestrahlung am Ende der Gemcitabin Exposition erfolgte. Auch das Ausmaß der Strahlensensibilisierung für Log-Phase Zellen – angegeben als „enhancement ratio,, – liegt im Bereich früherer Ergebnisse aus diesen Studien unter Berücksichtigung eines ähnlichen Dosierungsschemas. Mit Zunahme der Zeit zwischen beiden Behandlungsmodalitäten verringerte sich die Strahlensensibilisierung bei beiden Zelllinien und näherte sich unabhängiger Toxizität an. Zur Quantifizierung dieser durch Gemcitabin induzierten nicht-letalen Wirkungen, die möglicherweise mit ionisierenden Strahlen interagieren, wurde angenommen, daß der Abfall der Strahlensensibilisierung nach erfolgter Gemcitabin Exposition einer Kinetik 1. Ordnung gehorcht. Die Daten wurden einer entsprechenden Funktion angepaßt, aus der sich Halbwertszeiten von 75 Minuten für V79-Zellen und 92 Minuten für Widr-Zellen kalkulieren ließen.

Bei den synchronisierten Zellen ergab sich eine signifikante Strahlensensibilisierung für S-Phase Präparationen beider Zelllinien, während bei G1-Phase Zellpopulationen eine unabhängige Toxizität beobachtet wurde (=rein additive Effekte). Die S-Phasenspezifische Strahlensensibilisierung scheint somit entscheidend für die beobachteten supraadditiven Effekte bei Log-Phase Zellen zu sein. Die damit verbundene Umkehr der Strahlenresistenz während der S-Phase könnte implizieren, daß Gemcitabin die

Reparatur strahlen-induzierter potentiell letaler Schäden verhindert. Selbst wenn dies der zugrundeliegende Prozeß ist, bleibt unklar, in welcher Weise Reparaturvorgänge gehemmt werden. Als mögliche Erklärung könnte die diskutierte Depletion zellulärer dATP-Pools dienen, oder der durch Gemcitabin verursachte Mechanismus der „masked chain termination“, behindert direkt die Reparatureplikation.