

Armin Ackermann
Dr. med.

Wirkung von ionisierenden Strahlen auf gesunde und maligne Zellen des Knochengewebes

Geboren am 22.02.1968 in Heidelberg
Reifeprüfung am 19.05.1988 in Heidelberg
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1990 bis SS 1999
Physikum am 24.03.1993 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg und Südafrika (Durban, Kapstadt)
Staatsexamen am 18.05.1999 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Orthopädie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. D. Sabo

Die Strahlentherapie von primären malignen Knochentumoren mit ionisierenden Strahlen hat das Ziel, eine Tumorerstörung unter Schonung des Normalgewebes zu erreichen. Dies setzt voraus, daß die unterschiedliche Strahlenempfindlichkeit von gesundem und pathologischem Gewebe bekannt ist.

In dieser experimentellen Arbeit sollte die Auswirkung verschiedener Bestrahlungsdosen auf Zellkulturen von osteoblasten-ähnlichen Zellen und Knochentumorzellen untersucht werden. Es wurden Kulturen osteoblasten-ähnlicher Zellen aus gesunden Os ilium-Biopsien, aus drei verschiedenen Osteosarkom-Biopsien und aus geklonten Osteosarkom-Zell-Linien (Saos-2, HOS TE 85, MG 63) verwendet. Der Einfluß der Bestrahlung auf die Proliferation der Zellkulturen wurde zum einen anhand von Zellzahlbestimmungen und den sich ergebenden Proliferationskurven und Verdopplungszeiten untersucht. Mit Hilfe der Überlebensrate und der ermittelten D37 sollte ein Vergleich der Strahlenwirkung durchgeführt werden. Zum anderen sollte durch den Nachweis einer Inkorporation von BrdU in die DNA die Wachstumsfraktion der Zellen bestimmt werden.

Mit Ausnahme der geklonten Tumorzell-Linien handelte es sich bei den bestrahlten Zellkulturen um Mischpopulationen. Um die Vitalität der für die Knochenbildung entscheidenden Zellen nach Bestrahlung zu untersuchen, wurde für die Os ilium-Zellen und die Zellen der drei Osteosarkome eine Charakterisierung der Zellen anhand der relativ osteoblastenspezifischen Synthese von Kollagen Typ I und Alkalischer Phosphatase

durchgeführt. Eine Beeinflussung dieser Syntheseparameter durch Bestrahlung sollte untersucht und miteinander verglichen werden.

Um der Bestrahlungssituation *in vivo* gerechter zu werden, sollte in einem weiteren Versuchsansatz das Auswachsverhalten von Zellen aus den Knochenstücken der oben genannten Gewebe beobachtet werden. Anhand der ermittelten D37 sollte die Strahlenempfindlichkeit der Knochenstücke gesunden und malignen Gewebes untersucht und ein Vergleich der Strahlenwirkung auf Knochenstücke und Zellkulturen durchgeführt werden. Die Proliferationskurven und Verdopplungszeiten der verschiedenen Zellkulturen nach der Bestrahlung zeigten, daß Bestrahlungsdosen zwischen 2 und 7 Gray zu einer deutlich verminderten Proliferation der osteoblasten-ähnlichen Zellen führten. Dosen zwischen 7 und 20 Gray hatten häufig einen Zelltod zur Folge. Die Zellen der geklonten Tumorzell-Linien waren bezüglich der D37 am strahlenempfindlichsten, während die Os ilium-Zellen entsprechend einem höheren Differenzierungsgrad die größte Strahlenresistenz aufwiesen. Auch die Wachstumsfraktion der Zellkulturen war nach Bestrahlung dosisabhängig reduziert, und die ermittelte D37 sprach für eine höhere Strahlensensibilität der geklonten Tumorzell-Linien im Vergleich zu gesunden Os ilium-Zellen.

Eine durch Bestrahlung induzierte Differenzierung der osteoblasten-ähnlichen Zellen und eine Selektion von reifen strahlenresistenteren Zellen würde die beobachtete Steigerung der Synthese von Kollagen Typ I pro Zelle mit zunehmender Dosis erklären. Dieser Syntheseanstieg war bei den Osteosarkom-Zellen ausgeprägter und wurde nach Strahlendosen bis 20 Gray festgestellt gegenüber 15 Gray bei den Os ilium-Zellen.

Während sich die Aktivität der Alkalischen Phosphatase der Os ilium-Zellen nach Bestrahlung insgesamt wenig veränderte, verminderte sich die Aktivität der Osteosarkom-Zellen ab einer Dosis von 7 Gray im Vergleich zur Kontrolle.

Die mit Hilfe der Auswachsdaten ermittelte D37 wies auf eine höhere Strahlenempfindlichkeit der Osteosarkom-Knochenstücke im Vergleich zu Os ilium-Knochenstücken hin.

Knochenstücke reagierten empfindlicher auf Bestrahlung als in Kultur befindliche Zellen.

Das grundsätzlich unterschiedliche Proliferationsverhalten des untersuchten Zellmaterials erschwerte einen Vergleich.

Generell gilt für Zellkulturen, daß unterschiedliche Kulturbedingungen die Ergebnisse bei der Untersuchung von osteoblasten-ähnlichen Zellen beeinflussen können. Zudem müssen bei einer Bestrahlung von Zellen in Kultur die Strahlenwirkung beeinflussende Faktoren wie Dosisabhängigkeit, Differenzierungsgrad, Wachstumsfraktion oder Phase des

Generationszyklus der Zellen und nicht zuletzt individuell verschiedene Reaktionen einzelner Zellen auf Bestrahlung berücksichtigt werden.

Der Strahlensensibilität des gesunden Knochengewebes, besonders des am häufigsten von primären malignen Knochtumoren betroffenen kindlichen Knochens, sollte durch eine geringstmögliche Strahlenbelastung Rechnung getragen werden. Die in dieser Studie beobachteten Auswirkungen von ionisierenden Strahlen auf die Vitalität von malignen Knochenzellen nach Strahlendosen, die unter den im Rahmen einer Strahlentherapie üblicherweise applizierten Dosen lagen, könnten darauf hindeuten, dass geringere Strahlendosen für eine Tumorkontrolle möglicherweise ausreichend sind.