

Tobias Schulze  
Dr. med.

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

Geboren am 06.05.1968 in Heidelberg  
Reifeprüfung am 15.05.1987 in Heidelberg  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1989/90 bis WS 1996/97  
Physikum am 11.09.1991 an der Freien Universität Berlin  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Sinsheim  
Staatsexamen 02.12.1996 an der Universität Heidelberg

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

Die kombinierte Behandlung maligner Tumoren mit Zytostatika und ionisierenden Strahlen wird bei zahlreichen Krebsarten erfolgreich eingesetzt. Gute Ansprechraten zeigten sich auch in einer parallel zu vorliegenden experimentellen Untersuchungen zwischen 1994 und 1996 in Kooperation der Radiologischen Universitätsklinik Heidelberg und der Thoraxklinik Heidelberg-Rohrbach durchgeführten Phase I/II-Studie zur simultanen Radiochemotherapie beim lokal fortgeschrittenen, inoperablen nicht kleinzelligen Bronchialkarzinom mit dem Zytostatikum Ifosfamid. Zu möglichen Wechselwirkungen von ionisierenden Strahlen und dem zur Gruppe der Alkylantien gehörenden Ifosfamid gibt es nur sehr wenige experimentelle Untersuchungen, da der biologisch wirksame Metabolit 4-Hydroxyifosfamid erst nach Verstoffwechslung in der Leber entsteht. Durch die Verfügbarkeit der „prodrug“ 4-Hydroperoxyifosfamid (4HOOIF), das in wäßriger Lösung rasch zum aktiven Wirkstoff zerfällt, konnten die vorliegenden zellulären und molekularen Studien durchgeführt werden.

Einerseits wurde das klonogene Überleben von vier exponentiell wachsenden Zelllinien (drei Tumorzelllinien: Widr, Caski, MRI-H-221 und Lungenfibroblasten des Hamsters V79) und von zwei Zelllinien (Widr und V79) in unterschiedlichen Zellzyklusphasen nach alleiniger 4HOOIF-Exposition und in Kombination mit Bestrahlung bestimmt. Andererseits wurde mit Hilfe der Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) der Einfluß von 4HOOIF auf Induktion und rejoining von DNA-Doppelstrangbrüchen (DSB) untersucht.

Bei Bestimmung des klonogenen Überlebens nach alleiniger 4HOOIF-Behandlung zeigte sich deutliche Toxizität ohne größere Unterschiede in allen Zelllinien. Bei synchronisierten Zelllinien waren die S-Phase-Zellen am sensibelsten, entgegengesetzt der Situation nach alleiniger Bestrahlung, bei der sich in der S-Phase die größte Strahlenresistenz zeigt. Bei kombinierter Behandlung von 4HOOIF und ionisierenden Strahlen zeigten sich für exponentiell wachsende Zellen und Zellen in der G1-Phase additive Wirkungen, die Berechnung von Verstärkungsfaktoren (ER-Werte  $> 1$ ) weist

jedoch auf Wechselwirkungen zwischen beiden Behandlungsmodalitäten hin, die über die unabhängige klonogene Zelinaktivierung durch die einzelnen Modalitäten hinausgehen. Für Zellen der S-Phase wurden eindeutig überadditive Wechselwirkungen zwischen 4HOOIF und ionisierenden Strahlen mit ER-Werten  $\geq 1.50$  nachgewiesen. Die Erklärung für die strahlensensibilisierenden Effekte von 4HOOIF könnte in der Fixierung potentiell letaler und subletaler Strahlenschäden liegen, bedingt durch reduzierte DNA-Reparaturfähigkeit aufgrund von Wechselwirkungen der durch Ifosfamid und Bestrahlung verursachten DNA-Schäden. Dabei sind die relevanten DNA-Schadensmechanismen vor allem strahleninduzierte DNA-DSB und durch DNA-Alkylierung bedingte 4HOOIF-induzierte DNA-DNA-crosslinks (ISC) und DNA-Protein-crosslinks (DPC).

Die PFGE-Experimente zeigten erstmals eine ausgeprägte DNA-Doppelstrangbruchinduktion durch 4HOOIF in Säugetierzellen. Die Betrachtung der unterschiedlichen DNA-DSB-Raten in beiden untersuchten Zelllinien - für V79 ca. um den Faktor 2.5 höher als für Widr -, die sich nicht in den Überlebensraten widerspiegeln, legt die Vermutung nahe, daß die 4HOOIF-induzierten DNA-DSB nicht die primär für den Zelltod verantwortlichen DNA-Schäden sind. Weiterhin zeigte sich eine deutlich langsamere Reparaturkinetik für 4HOOIF-induzierte DNA-DSB, im Vergleich zur Reparatur strahleninduzierter DNA-DSB, die der Reparaturkinetik von ISC und DPC entsprach. Daher wurden die in der PFGE gemessenen DNA-DSB als sekundäre, im Rahmen der Reparatur von ISC und DPC entstandene Läsionen interpretiert.

Die Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen zeigen, ebenso wie die parallel durchgeführte Phase I/II-Studie zur simultanen Radiochemotherapie mit Ifosfamid beim inoperablen, nicht kleinzelligen Bronchialkarzinom, eine hohe antitumorale Wirksamkeit der kombinierten Anwendung von Ifosfamid und Bestrahlung.