

Gunnar Hübner

Dr. med.

In vitro und in vivo Untersuchungen zur Eignung von Albuminkonjugaten als Träger strahlensensibilisierender Wirkstoffe

Promotionsfach: Radiologie

Doktorvater: Prof. Dr.rer.nat. Dipl.-Phys. Klaus-Josef Weber

Die kovalente Bindung niedermolekularer Zytostatika an das Makromolekül Albumin ist ein neues Verfahren, um eine deutlich verbesserte Aufnahme von Zytostatika in Tumoren herbeizuführen. Als ein erstes solches Zytostatika-Albuminkonjugat konnte Methotrexat-Albumin (MTX-HSA) in die klinische Prüfung übernommen werden. In präklinischen Untersuchungen sowie Phase I und II Studien zeigte MTX-HSA ein sehr günstiges Wirkprofil. Auf der Basis der Bindungstechnik des MTX-HSA konnten nun insgesamt 7 weitere bioaktive und potentiell strahlensensibilisierende Wirkstoffe an Albumin gebunden werden. In der vorliegenden Arbeit wurde geprüft, ob diese Albuminkonjugate wachstumshemmende und ggf. strahlensensibilisierende Wirkung auf solide Tumore zeigen.

In Vorversuchen an Zellkulturen wurden die Albuminkonjugate Methotrexat-HSA, Cisplatin-HSA, Trijodbenzoesäure-HSA, Diclofenac-HSA und Tetrabromphtalicsäure-HSA sowie die entsprechenden niedermolekularen Reinsubstanzen in der Zellkultur an zwei verschiedenen Zelllinien (V79 Lungenfibroblasten und WIDR humanen Kolonkarzinomzellen) geprüft. Bei allen in vitro Versuchen wurde das klonogene Überleben der Zellen gemessen und zwar nach alleiniger Inkubation mit unterschiedlichen Konzentrationen der Substanzen für 24 Stunden, nach alleiniger Inkubation mit definierter Konzentration der Substanzen für verschiedene Inkubationszeiten, nach alleiniger Bestrahlung mit 2, 4, 6 oder 8 Gray und nach kombinierter Behandlung mit 0,1 $\mu\text{mol}/1 \mu\text{M}$ für 24/48 Stunden und Bestrahlung (4 Gy). In Anlehnung an frühere Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Albuminkonjugate in äquivalenten Konzentrationen zu den niedermolekularen Wirkstoffen weniger toxisch sind. Bei der Bestrahlung zeigten Cisplatin-HSA und TbPh-HSA supraadditive Effekte, so dass man von einer Strahlensensibilisierung durch die Wirkstoffe ausgehen kann.

Die nur in vitro durchgeführten Experimente mit niedermolekularem Titanocene Y und erstmalig in kombinierten Experimenten einer Tumorzelllinie mit Bestrahlung, zeigen einen gegenüber Cisplatin radiosensibilisierende Wirkung von Titanocene Y. Dieses neue Chemotherapeutikum sollte daher präklinisch gezielt auf seine Eignung in einer kombinierten Radiochemotherapie geprüft werden.

Alle anderen Substanzen zeigten eine unabhängige Toxizität (= rein additive Effekte). Bereits in früheren Arbeiten wurde auf die bedingte Aussagekraft der in vitro Versuche mit Albuminkonjugate hingewiesen, so dass in einem zweiten Schritt geeignete Substanzen im Tierversuch geprüft wurden.

Für die in vivo Versuche standen LLC tragende C57/bl6 Inzuchtmäuse (SPF-Status) zur Verfügung. Die Injektion der Wirkstoffe (max. 1ml) erfolgte jeden zweiten Tag, insgesamt 6-mal intraperitoneal. Die Kontrolle des Tumorwachstums erfolgte alle zwei Tage. Es wurden damit zwei Versuchsserien durchgeführt, die jeweils unterschiedliche Gesichtspunkte der Kombinationstherapie aufzeigen sollten.

Für die erste Versuchsserie stand die Frage im Vordergrund, in welcher Dosis die neuen Albuminkonjugate Toxizität und eine potentielle antitumoröse Wirkung entwickeln. In 4 Einzelversuchen wurde Doxorubicin-HSA, Aminopterin-HSA, MTXPG4-HSA, niedermolekulares Cytarabin sowie als Kontrolle Methotrexat-HSA an bis zu 7 tumortragenden Tiere pro Therapiegruppe getestet. Die Wirkstoffe wurden als Mono- sowie als Kombinationstherapie verabreicht. Dabei zeigten die Monotherapien mit Aminopterin-HSA und MTXPG4-HSA bei hoher Toxizität eine Tumorremission. Alle anderen Substanzen zeigten eine moderate, tumorstabilisierende Wirkung auf das LLC-Modell. Die Kombination von MTX-HSA und Doxorubicin-HSA war die wirksamste Kombinationstherapie. Die tumorinhibierende Wirkung der Kombination war zwar geringfügig besser als die Monotherapien von MTX-HSA, Doxo-HSA und niedermolekularem Cytarabin, blieb aber der alleinigen Aminopterin-HSA sowie MTXPG4-HSA Gabe unterlegen.

In der zweiten Versuchsserie sollte erstmals festgestellt werden, ob die Kombinationstherapie von Albuminkonjugaten und einer Einzeitbestrahlung mit 7 Gy stärkere Wirkeffekte aufzeigt. Dazu wurden die tumortragenden Tiere entweder mit MTX, MTX-HSA, Cytarabin oder der Kombination von MTX-HSA und Cytarabin therapiert und am Tag 5 bestrahlt. Die Kombination aus MTX-HSA und Bestrahlung zeigte einen supraadditiven Effekt und somit eine mögliche Strahlensensibilisierung, die anderen Therapiegruppen lediglich additive Effekte.

Nach den vorliegenden Daten ist die Verwendung von TbPH-HSA sowie MTXPG4-HSA für einen potentiellen therapeutischen Einsatz geeignet, was jedoch durch weitere Versuche verifiziert werden muss.