

Aus dem Institut für Biophysik und Strahlenbiologie
(Direktor : Prof. Dr. Horst Jung) des
Universitätskrankenhauses Hamburg-Eppendorf

VERGLEICH DES EFFEKTES EINER HYPOFRAKTIONIERTEN
STRAHLENTHERAPIE MIT EINER KONVENTIONELLEN
FRAKTIONIERUNG AUF DIE LOKALE KONTROLLE MENSCHLICHER
FADU-PLATTENEPIHELKARZINOME IN NACKTMÄUSEN

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg vorgelegt von

JAN ADAM HELFRICH

aus Hamburg

Hamburg 2000

Angenommen vom Fachbereich Medizin der
Universität Hamburg am: 27.März 2001

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität Hamburg.

Sprecher: Prof. Dr. med. Leichtweiß

Referent: Prof. Dr. med. Michael Baumann

Koreferent: Prof. Dr. Hans-Peter Beck-Bornhold

Gewidmet

Meiner Mutter,

die mir Alles ermöglicht hat,

und

meinem Vati,

der so stolz gewesen wäre.

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
2. MATERIAL UND METHODEN	13
2.1. Tumor.....	13
2.2. Wirt.....	14
2.3. Tumolvolumenmessung.....	15
2.4. Bestrahlungen.....	15
2.4.1. Ganzkörperbestrahlung.....	15
2.4.2. Lokale Bestrahlung.....	15
2.4.3. Dosimetrie.....	17
2.4.4. Qualitätssicherung bei der lokalen Bestrahlung.....	18
2.5. Aufbau des Experiments.....	18
2.7. Lokale Kontrolle.....	22
2.8. Tumorrezidive.....	24
2.9. Wachstumsverzögerung.....	24
2.10. Statistische Auswertung.....	26
3. ERGEBNISSE	27
3.1. Lokale Tumorkontrolle.....	27
3.2. Wachstumsverzögerung.....	31
4. DISKUSSION	37
4.1. Einfluß der Fraktionierung auf die lokale Tumorkontrolle.....	37
4.2. Vergleich der Fraktionierungsempfindlichkeit ($\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Wert) nach klinikrelevanter Fraktionierung mit der Erholungskapazität von FaDu-Tumorzellen <i>in vitro</i> und <i>in vivo</i> (α/β -Wert).....	44
4.3. Zusammenfassende Diskussion und Ausblick.....	51
5. ZUSAMMENFASSUNG	53
6. LITRATURVERZEICHNIS	55
7. DANKSAGUNG	64
8. LEBENSLAUF	65

1. EINLEITUNG

Tumorerkrankungen sind heute nach Erkrankungen des Herzkreislaufsystems die zweithäufigste Todesursache in den westlichen Industrienationen. Etwa jeder zweite Patient mit einer malignen Neoplasie wird dabei im Verlauf seiner Erkrankung mit einer Strahlentherapie behandelt. Die Strahlentherapie stellt somit neben der Chirurgie und der Chemotherapie eine der Hauptmodalitäten in der Behandlung dieser Erkrankungen dar (DeVita 1997, Hellmann 1997, Rosenberg 1997).

Grundsätzlich werden bei diesen drei onkologischen Behandlungsformen ein palliativer und ein kurativer Behandlungsansatz unterschieden. Angestrebt wird bei der palliativen Strahlentherapie die Verbesserung der Lebensqualität bzw. die Lebensverlängerung ohne Aussicht auf eine dauerhafte Heilung. Beispielhaft sind hier die Bestrahlung von Knochenmetastasen, zur Schmerztherapie sowie Bestrahlungen zur reinen Reduktion der Tumormasse zu nennen. Dem steht der kurative Ansatz gegenüber, dessen Ziel die lokale Tumorvernichtung unter optimaler Schonung der umgebenen Normalgewebe ist (Holthausen 1936).

Die lokale Tumorkontrolle kann mit den heute angewandten Behandlungstechniken für viele Patienten erreicht werden. Dennoch verstirbt immer noch ungefähr ein Drittel aller Patienten nach erfolgter Strahlentherapie an oder mit einem lokalen Rezidiv (Suit 1982, Suit 1988, Leibel und Fuks 1993). Mehrere Untersuchungen konnten zeigen, daß lokale Rezidive die Wahrscheinlichkeit von Fernmetastasen erhöhen (Baumann et al. 1990a, Suit et al. 1994). Auch erleidet mit den heute angewandten Bestrahlungsschemata eine nicht zu vernachlässigende Anzahl von Patienten leichte und schwere Nebenwirkungen. Aus dem zuvor Gesagten ergibt sich, daß eine Optimierung strahlentherapeutischer Behandlungsmethoden von erheblichem klinischen Interesse ist. Eine derzeit geprüfte Möglichkeit, die Strahlentherapie effektiver und gleichzeitig nebenwirkungsärmer zu gestalten, ist es, die räumliche Dosisverteilung mittels dreidimensionaler Strahlentherapieplanung und

Applikation zu verbessern. Hierdurch kann es gelingen, die Dosis im Tumor zu erhöhen und gleichzeitig die Strahlenbelastung des umliegenden Normalgewebes zu verringern. Andere Bestrebungen sind darauf ausgerichtet, die jeweils günstigste Dosis-Zeit-Verteilung für die vorliegende Tumorentität zu bestimmen, das heißt, das Fraktionierungsschema zu optimieren.

Schon bald nach dem ersten Einsatz von Röntgenstrahlen in der Therapie maligner Tumoren wurde erkannt, daß die Wirksamkeit einer Strahlentherapie durch Aufteilung der Gesamtdosis, sogenannte Fraktionierung, gesteigert werden kann. Hauptziel der Fraktionierung war es dabei, frühe Hautschäden zu vermeiden, die zu dieser Zeit den limitierenden Faktor der Strahlentherapie darstellten.

Im Tierexperiment an Hammelhoden hatten Regaud und Nogier 1911 zeigen können, daß eine dauerhafte Sterilisation der Tiere mit einer Einzeitbestrahlung ohne gleichzeitige starke Schädigung des Scrotums nicht möglich war (Regaud und Nogier 1911). Die Sterilisation ohne Schädigung des Scrotums wurde hingegen möglich, wenn die zu verabreichende Gesamtdosis über drei Sitzungen verteilt wurde. Durch die Fraktionierung der Dosis konnte also die Verträglichkeit einer Strahlentherapie gesteigert werden.

1914 veröffentlichte der Wiener Strahlentherapeut Schwarz die Fallbeschreibung einer Patientin, deren Mediastinaltumor durch Therapie mit mehreren kleinen Dosen zur Abheilung gebracht werden konnte, während dies zuvor durch eine Einzeitbestrahlung nicht gelungen war (Schwarz 1914). Schwarz vertrat die Auffassung, daß die Effektivität einer Strahlentherapie durch Fraktionierung gesteigert werden könne. Dies führte er darauf zurück, daß die Zellen in '*verschiedenen Stoff- und Formwechselphasen*' verschieden sensibel gegen Strahlung seien. Die Wahrscheinlichkeit, die Tumorzellen in '*strahlensensiblen Teilungsphasen*' zu treffen sei größer, wenn man mehrere kleine Strahlendosen anstelle einer großen verabreiche. Daß Zellen ihre Strahlensensitivität im Mitosezyklus ändern, konnte später strahlenbiologisch untermauert werden (Sinclair und Morton 1966, Fidorra und Linden 1977).

Coutard veröffentlichte 1932 Ergebnisse seiner zwischen 1921 und 1926 behandelten Patienten mit Tumoren im Kopf-Hals-Bereich (Coutard 1932). Geleitet von der Annahme, die Strahlenempfindlichkeit eines Tumors entspräche der seines Ursprungsgewebes, bestrahlte er in täglichen Fraktionen bis zum Auftreten feuchter Epitheliolysen bzw. Mukositiden. Mit dieser Technik gelang ihm die Einstrahlung größerer als der bislang üblichen Gesamtdosen und somit die Vernichtung bis dahin strahlentherapeutisch nicht heilbarer Tumore.

Über die Verlängerung der Gesamtbehandlungszeit bei gleichzeitiger Erhöhung der Gesamtdosis gelang es seinem Nachfolger Baclesse, eine Fraktionierungstechnik zu entwickeln, die bei gleicher Wirkung auf den Tumor besonders schwere Haut- und Schleimhautschäden vermied. Die konsequente Weiterentwicklung dieses Behandlungsansatzes führte zu dem heute üblichen Fraktionierungsschema mit täglichen Dosen um 2 Gy bei Gesamtdosen von 60 bis 75 Gy in 6 Wochen.

Nachdem man sich so zunächst empirisch an das jeweils bestmögliche Fraktionierungsschema herangetastet hatte, versuchten Wissenschaftler ab etwa Mitte des 20. Jahrhunderts Dosis-Zeit-Beziehungen in der Strahlentherapie mathematisch zu beschreiben.

Erste Modelle von Strandquist (1944) und Cohen (1949) beschrieben dabei den Effekt einer Strahlentherapie alleinig in Abhängigkeit von der Gesamtdosis und der Gesamtbehandlungszeit.

Eine scharfe Trennung zwischen Gesamtbehandlungszeit und Anzahl der Fraktionen machte als einer der ersten Ellis, als er 1969 seinen klinischen Formalismus vorstellte (Ellis 1969). Als Weiterentwicklung früherer Modelle von Strandquist (1944) und Cohen (1949) erlaubte die sogenannte Ellis-Formel somit Isoeffekte, wie zum Beispiel Tumorvernichtungsraten, bei Bestrahlung mit verschiedenen Fraktionierungen zu berechnen. Untersuchungen von Fowler an Schweinehaut und eigene klinische Erfahrungen hatten ihn dabei zu der Annahme geleitet, daß neben der Gesamtdosis und der Gesamtbehandlungszeit auch die Dosis pro Fraktion sowie die Anzahl der Fraktionen von entscheidender

Bedeutung für das Resultat einer Strahlentherapie seien. Die strahlenbiologische Grundlage seines Modells bildeten Daten über Hautreaktionen nach Bestrahlung. Die sichtbaren Hautschäden verstand Ellis als Ausdruck der Reaktion des unter der Haut liegenden Bindegewebes. Diese Bindegewebsreaktion beschrieb er als den limitierenden Faktor einer Strahlentherapie. Darüber hinaus postulierte er, daß alle menschlichen Gewebe, mit Ausnahme von Knochen und Hirn, in gleicher Weise auf eine Bestrahlung reagieren. So formulierte Ellis unter Einbeziehung eines Fraktionierungsfaktors seine Formel für Normalgewebsreaktionen mit

$$D = \text{NSD} \times N^{0.22} \times T^{0.11}$$

bei NSD gleich Nominale Standarddosis, N gleich Anzahl der Fraktionen, D entspricht der Gesamtdosis und T repräsentiert die Gesamtbehandlungszeit. Bei der Berechnung der Tumorvernichtung entfällt der Zeitfaktor (T), da Ellis den Tumorgewebe die Fähigkeit der homöostatischen Kontrolle absprach, und diese als Grundlage des Zeitfaktors sah.

Schon bald wurde das Ellis-Konzept heftig kritisiert (Liversage 1971, Singh 1978, Thames und Hendry 1987, Übersicht bei Herrmann und Baumann 1997). Unter anderem konnte die Annahme, daß frühe Hautreaktionen ein Ausdruck der Schädigung des unterliegenden Bindegewebes seien, nicht bestätigt werden. Der Nachweis einer zum Teil beschleunigten (akzelerierten) Repopulierung von Tumoren unter Bestrahlung deutet an, daß auch Tumoren einer gewissen homöostatischen Kontrolle unterliegen (Trott und Kummermehr 1991).

Unter Anwendung der Ellis-Formel wurden in den sechziger und siebziger Jahren aus Praktikabilitätsgründen und aus Gründen limitierter Ressourcen häufig hypofraktionierte Behandlungsschemata, das heißt Behandlungen mit wenigen, dafür hochdosierten Fraktionen, verschrieben. Die frühen Nebenwirkungen und die Tumorkontrollraten entsprachen den Abschätzungen nach der Ellis-Formel oder deren Erweiterung, der Time-Dose-Fractionation-Formel (Orton und Ellis 1973). Die späten Nebenwirkungen

wurden mit diesen Formeln jedoch systematisch unterschätzt, so daß nach Hypofraktionierungen vermehrt Spätnebenwirkungen beobachtet wurden (Fletcher, 1991). Späte Nebenwirkungen sind solche Nebenwirkungen, die Monate bis Jahre nach Ende einer Strahlentherapie auftreten. Dabei handelt es sich vor allem um Fibrosen, Myelopathien oder Teleangiektasien. Das von Ellis aufgestellte Postulat der identischen Erholungskapazität aller Gewebe mit Ausnahme von Knochen und Hirn ließ sich nach diesen Beobachtungen nicht mehr halten. Spätere Fraktionierungsexperimente bestätigten, daß der Fraktionierungseinfluss für frühe und späte Nebenwirkungen verschieden ist. Ein einzelner Exponent für N kann diese Unterschiede nicht beschreiben.

Dahingegen lassen sich solche Unterschiede in der Fraktionierungsempfindlichkeit von Geweben unter bestimmten Voraussetzungen mit dem 1972 von Kellerer und Rossi vorgestellten Linear-Quadratischen Modell (LQ-Modell) beschreiben. Die Wirkung einer fraktionierten Strahlentherapie wird hier mit der Gleichung

$$E = n (\alpha d + \beta d^2)$$

erfaßt. Dabei ist E der Effekt, n die Anzahl der Fraktionen, d die Dosis pro Fraktion und α und β sind gewebespezifische Parameter innerhalb des LQ-Modells. Die Absolutwerte für α und β lassen sich *in vivo* nicht bestimmen, es kann aber über den Vergleich unterschiedlicher Fraktionierungsschemata das α/β -Verhältnis bestimmt werden. Dieses Verhältnis wird als Maß für die Erholungsfähigkeit von Zellen bzw. Geweben herangezogen. Die unterschiedlich große Fraktionierungssensibilität verschiedener Gewebe kann bei der Planung einer Strahlentherapie ausgenutzt werden, um deren Wirksamkeit zu optimieren.

Viele Tumore und frühreagierende Normalgewebe weisen eine geringe Fraktionierungssensibilität auf, die für diese Gewebe gemessenen α/β -Werte sind zumeist größer als 10 Gy (Williams et al. 1985, Petersen et al. 1998). Im Gegensatz dazu weisen die meisten spätreagierenden Normalgewebe relativ kleine α/β -Werte, d.h. eine größere Fraktionierungssensibilität, auf. Durch eine

stärkere Fraktionierung kann somit bei gleicher Wirkung auf den Tumor spät reagierendes Normalgewebe "geschont" werden, da die letztgenannten Gewebe sich zwischen den Fraktionen vom subletalen Strahlenschaden erholen können.

Erholung vom subletalen Strahlenschaden wird dabei als Anstieg des Zellüberlebens durch Aufteilung der Gesamtdosis in mehrere Fraktionen definiert (Elkind und Sutton 1959, Steel 1991). Von der Erholung muß der Begriff der Reparatur abgegrenzt werden. Reparatur beschreibt die Fähigkeit der Zelle, durch Bestrahlung entstandene Schäden in ihrer DNA mit Hilfe ihres Enzymesatzes zu beseitigen (Steel 1991, Übersicht bei Dikomey 1993).

Die Erholung vom subletalen Strahlenschaden und somit der Mechanismus der Einsparung von Geweben durch fraktionierte Bestrahlung läßt sich gut an Experimenten in Zellkultur erläutern. Bei halblogarithmischer Darstellung von Zellüberlebenskurven *in vitro* zeigt sich im Bereich von kleinen Dosen eine charakteristische Schulter, die von einer steilen Abnahme des Zellüberlebens bei höheren Dosen gefolgt ist. Elkind und Sutton konnten in einem Experiment zeigen, daß sich diese Schulter reproduziert, wenn den Zellen zwischen zwei Bestrahlungen genug Zeit zur Erholung gelassen wird (Elkind und Sutton 1959). Dies wird auf die Beseitigung von subletalen Strahlenschäden in den Intervallen zwischen den Behandlungen zurückgeführt. Als subletale Strahlenschäden werden Schäden bezeichnet, die für sich genommen nicht zum reproduktiven Zelltod führen, wenn jedoch mindestens zwei dieser Schäden zeitgleich auftreten und beide Schäden miteinander wechselwirken, führen sie zum Zelltod. Die Form der erläuterten Zellüberlebenskurve kann gut durch das oben genannte LQ-Modell beschrieben werden.

$$SF = e^{-\alpha D - \beta D^2}$$

SF bezeichnet dabei die Überlebensfraktion (Surviving Fraction). Der lineare Term αD beschreibt die Anfangsneigung der Überlebenskurve, der quadratische Term βD^2 ist ein Maß für die Krümmung der Kurve.

Je kleiner αD und je größer βD^2 , je kleiner somit das Verhältnis α/β , desto besser ist die Erholungsfähigkeit der Zelle bzw. des Gewebes. Gewebe mit hohen α/β -Werten weisen nur einen geringen Fraktionierungseffekt auf, während Gewebe mit niedrigen α/β -Werten durch Fraktionierung erheblich geschont werden können.

Neben der erwähnten Erholung (Recovery) faßte Withers (1975 und 1985) unter den sogenannten vier R's der Strahlentherapie weitere Einflußfaktoren auf die fraktionierte Strahlentherapie zusammen. Dies sind die Reoxygenierung, Repopulierung und Redistribution.

Unter Repopulierung ist ein Wiederanwachsen einer Zellpopulation nach oder während einer Bestrahlungsbehandlung, zu verstehen. Kommt es während einer Strahlentherapie zu einer Proliferation klonogener Tumorzellen, kann es zur Abnahme der lokalen Tumorkontrolle kommen, da diese neugebildeten Zellen zusätzlich abgetötet werden müssen. Als klonogen werden solche Zellen bezeichnet, die in einer definierten Umgebung eine expandierende Population von Nachkommen erzeugen (Steel 1977, Steel 1993). In Experimentaltumoren konnte im Anschluß an die Bestrahlung eine akzelerierte Repopulierung durch überlebende klonogene Tumorzellen gezeigt werden (Hermens und Barendsen 1969, Stephens et al. 1978). Sie setzt jedoch erst nach einer dosisabhängigen Verzögerung von einigen Tagen ein und kann nicht als akzelerierte Repopulierung während einer fraktionierten Strahlentherapie gewertet werden. Da die Repopulierung durch klonogene Tumorzellen während der Behandlung nicht gemessen werden kann, muß ihr Einfluß indirekt über die Abnahme des Effektes der Bestrahlung mit zunehmender Gesamtbehandlungszeit bestimmt werden (Beck-Bornholdt 1992). Mehrere retrospektiv ausgewertete klinische Datensätze konnten eine Verringerung der lokalen Kontrolle mit zunehmender Gesamtbehandlungszeit zeigen (Withers et al. 1988, Maciewski 1991, Fowler und Lindstrom 1992).

Dies ist mittlerweile auch durch prospektiv randomisierte Studien von Kopf-Hals-Tumoren und nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen bestätigt worden (Horiot et al. 1997, Overgaard et al. 1997, Saunders et al. 1999, Skladowski et al. 1999, Turrisi et al. 1999).

Die Sensibilität von Zellen gegenüber ionisierender Strahlung korreliert mit ihrem Sauerstoffgehalt. Es konnte gezeigt werden, daß euoxische Zellen um den Faktor 2,7-3 strahlenempfindlicher sind als anoxische Zellen (Horsmann und Overgaard 1993, Hall 1994). Sauerstoff verstärkt den Effekt einer Strahlentherapie, indem er die durch sekundär ionisierte Moleküle und freie Radikale entstandenen Schäden in der DNA fixiert. Der genaue Mechanismus dieser Reaktion ist noch unklar. Mit den ersten Dosen einer fraktionierten Strahlentherapie werden zunächst die strahlensensiblen euoxischen Zellen abgetötet. Es wäre zu erwarten, daß die Wirksamkeit der Bestrahlungen nach den ersten Fraktionen abnimmt, da nun zunehmend hypoxische Zellen vorliegen (Kallmann 1972). Ursprünglich hypoxische Zellen können jedoch während der Behandlung wieder besser mit Sauerstoff versorgt werden. Diese Reoxygenierung nimmt dabei mit der Zeitspanne zwischen den Fraktionen zu (van Putten und Kallmann 1968, Kallmann 1972, Grau et al. 1990). Der prozentuale Anteil an oxigenierten Zellen kann innerhalb von 12 bis 24 Stunden wieder dem Ausgangswert vor Bestrahlung entsprechen (Grau et al. 1990). Reoxygenierung verstärkt so den Effekt einer fraktionierten Strahlentherapie, da ursprünglich resistenter Tumorzellen strahlensensibler werden.

Außerdem unterscheidet sich die Strahlenempfindlichkeit von Zellen in den verschiedenen Phasen des Zellzyklus. Als besonders strahlensensibel erweisen sich hierbei Zellen in der Mitose oder in der G₂-Phase (Sinclair und Morton 1966). Die erhöhte Strahlenempfindlichkeit in der G₂-Phase erklärt sich über die kurze verbleibende Zeit zur Reparatur von Schäden bis zur nächsten Zellteilung. Die Resistenz gegen ionisierende Strahlung in der S-Phase könnte in der speziellen Konformation der DNA zu diesem Zeitpunkt begründet liegen (Steel 1993). Bei Bestrahlung werden bevorzugt Zellen abgetötet, die sich in den strahlensensiblen Phasen befinden. Der relative Anteil von klonogenen Zellen in den resistenteren Phasen des Zellzyklus steigt zunächst an.

Die Wiederverteilung (Redistribution) der Zellen im Zellzyklus während einer fraktionierten Strahlentherapie kann so zur Veränderung der Strahlenempfindlichkeit eines Gewebes beitragen.

Die Fraktionierungsempfindlichkeit *in vivo* ist für Tumorzellen verschiedener muriner und humaner Tumorzelllinien, im Tiermodell bestimmt worden (Williams et al. 1985, Lindenberger et al. 1986, Zietman et al. 1990, Rofstad 1994). Um den Einfluß der Repopulierung und der Redistribution auf die Messung der Fraktionierungsempfindlichkeit möglichst gering zu halten, wurden diese Experimente meist bei kurzen Gesamtbehandlungszeiten und mit wenigen hochdosierten Fraktionen durchgeführt. Außerdem wurde versucht, alle Zellen in einen homogenen Oxygenierungszustand zu überführen, um den Einfluß des Sauerstoffs auf die Strahlenempfindlichkeit weitestgehend auszuschließen. Dazu wurden entweder hyperbarer Sauerstoff bzw. sogenannte "hypoxic cell sensitizer" verabreicht, oder es wurde für die Dauer der Bestrahlung der Blutfluß zu den Tumorzellen unterbrochen. Die unter solchen artifiziellen Bedingungen für Tumorzellen *in vivo* gemessenen α/β -Werte waren in den meisten Fällen größer als 8 Gy. Dies impliziert, daß eine stärkere Fraktionierung der Strahlendosis bei unveränderter Gesamtbehandlungszeit das Behandlungsergebnis für die meisten Tumoren nicht oder nur wenig beeinträchtigen würde.

Aus naheliegenden Gründen kann die Fraktionierungsempfindlichkeit humaner Tumoren *in vivo* in der Klinik nicht ohne den Einfluß anderer Faktoren, wie zum Beispiel der Reoxygenierung, der Redistribution oder der Repopulierung gemessen werden, da keine geeigneten Maßnahmen getroffen werden können, um diese Einflußfaktoren auszuschließen. Die unter den klinischen Bedingungen resultierende Fraktionierungssensibilität reflektiert somit das Zusammenspiel aller dieser Faktoren und wird als effektive Fraktionierungssensibilität bezeichnet ($\alpha/\beta_{\text{eff}}$) (Williams et al. 1985).

Die Abschätzung der effektiven Fraktionierungssensibilität von Tumoren oder Tumorentitäten in klinischen Studien wird dadurch erschwert, daß histologisch gleichartige Tumoren verschiedener Patienten verschiedene Fraktionierungssensibilitäten aufweisen können.

So konnte die Arbeitsgruppe um Bentzen et al. (1989) in einer klinischen Untersuchung an 121 Melanompatienten zeigen, daß die Unterschiede in der Tumorkontrolle zwischen verschiedenen Läsionen eines und desselben Patienten signifikant kleiner waren als die zwischen Läsionen verschiedener Patienten (Bentzen et al. 1989). Worin die unterschiedlichen Fraktionierungssensibilitäten histologisch gleicher Tumoren verschiedener Patienten begründet liegen, ist zur Zeit noch unklar. Vorgeschlagene Erklärungen sind zum einen verschiedene intrinsische Strahlensensibilitäten der genetisch unterschiedlichen Tumore oder auch Unterschiede in der Immunkompetenz der behandelten Patienten (Bentzen 1993).

Trotz dieser Einschränkung scheinen die wenigen zur Zeit vorliegenden effektiven α/β -Werte, die an Patienten in der Klinik bestimmt wurden, deutliche Unterschiede in der Fraktionierungssensibilität verschiedener Tumorentitäten zu zeigen. So wurden an Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren, bei unterschiedlich großen Konfidenzintervallen, $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Werte von um die 10 Gy bestimmt. Unter Annahme dieser Werte erscheint es sinnvoll, diese Tumoren mit möglichst vielen, dafür kleinen Fraktionen zu behandeln. Für erfahrungsgemäß strahlentherapeutisch schwerer angehbare Melanome und Liposarkome sind dahingegen $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Werte von 0.6 Gy bzw. 0.4 Gy bestimmt worden (Thames and Suit 1986, Bentzen et al. 1989, Thames et al. 1990). Diese Werte lassen es, bei solchen Tumoren, unter Umständen sinnvoll erscheinen, eine Therapie mit wenigen großen Fraktionen zu planen, um die bestmöglichen Behandlungserfolge zu erzielen.

Plattenepithelkarzinome, z.B. der Lunge, des Kopf-Hals-Bereiches oder der Cervix, machen einen großen Anteil der mit Strahlentherapie behandelten Tumoren aus. Es liegen daher bereits klinische Studien vor, die sich

insbesondere mit dem Einfluß der Fraktionierung bei der strahlentherapeutischen Behandlung dieser Tumorentitäten befassen (Singh 1978, Slawson et al. 1988, Saunders und Dische 1986, Saunders et al. 1991, Slotmann et al. 1993). Zum jetzigen Zeitpunkt gibt es jedoch nur wenige experimentelle Untersuchungen, die sich mit der Korrelation der Fraktionierungssensibilität (α/β) und dem in unter klinischen Bedingungen gemessenen effektiven $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Wert befassen. Für das menschliche Plattenepithelkarzinom FaDu ist bereits die Fraktionierungssensibilität (α/β) bestimmt worden (Baumann 1994). Zusätzlich wurde für den FaDu-Tumor schon die Wirkung einer hyperfraktionierten Strahlentherapie bestimmt (Melenkeit 1997). Es ergibt sich somit hier die Möglichkeit, diese Ergebnisse durch den Vergleich einer hypofraktionierten Strahlentherapie mit einer konventionellen Behandlung, bei gleichlanger Gesamtbehandlungszeit, zu ergänzen.

FaDu-Tumoren können als Xenotransplantat auf thymusaplastische Nacktmäuse transplantiert werden (Flanagan 1966, Baumann et al. 1992). Die Tumoren wachsen dann umgeben vom Stroma des Wirtes und werden von dessen Gefäßsystem versorgt. Sie behalten dabei eine Reihe von Eigenschaften des Originaltumors (Houghton & Houghton 1987, Steel 1987, Rofstad 1989, Suit et al. 1989). Deutliche Parallelen zu klinischen Beobachtungen konnten bei Behandlung von Tumorxenotransplantaten verschiedener Histologie sowohl mit Chemotherapie, als auch mit ionisierender Strahlung festgestellt werden (Steel 1987, Baumann 1996).

Entscheidende Unterschiede des Experimentaltumors zum Originaltumor bestehen in der Gefäßversorgung, der nach rechts verschobenen Sauerstoffbindungskurve des murinen Hämoglobins, der oftmals beschleunigten Volumenverdopplungszeit und in eventuellen Einflüssen des residuellen Immunsystems des Wirtes (Gray 1964, Steel und Peckham 1980, Zietmann 1988, Houghton und Houghton 1987, Rofstad 1985 und 1989, Suit et al. 1989).

Als experimentelle Endpunkte wurden die Wachstumsverzögerung und die lokale Tumorkontrolle gewählt. Hauptaugenmerk lag dabei in der Planung des Experiments auf der Tumorkontrolle, die auch sehr kleine Anteile besonders resistenter klonogener Zellen erfaßt. Vorteile in der Anwendung der lokalen Tumorkontrolle als Endpunkt des Experimentes sind die relativ einfache Bestimmung und die weitestgehende Unabhängigkeit vom Untersucher. Darüber hinaus läßt sich aus den Tumorkontrollraten bei verschiedenen Fraktionierungen der $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Wert bestimmen, was den Vergleich der Fraktionierungssensibilität unter klinikähnlichen Bedingungen mit den früher bestimmten α/β -Werten erlaubt. Diese Vorteile werden mit dem hohen experimentellen Aufwand, langen Nachbeobachtungszeiten und der Anfälligkeit der lokalen Kontrolle gegenüber Einflüssen des residuellen Immunsystems erkauft.

Wie bei der Behandlung von Tumoren in der Klinik wurden die Tumoren unter normalen Blutflußbedingungen bestrahlt. Um den möglichen Einfluß proliferierender klonogener Tumorzellen auf die Ergebnisse zu minimieren, wurde die Gesamtbehandlungszeit für alle Behandlungsgruppen konstant gehalten. Sie betrug in Anlehnung an klinische Gegebenheiten 6 Wochen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist zusammenfassend:

Die Bestimmung des Einflusses der Anzahl der Fraktionen auf die Tumorstärke einer Strahlentherapie unter klinikähnlichen Bedingungen durch den Vergleich einer hypofraktionierten Strahlentherapie mit einer konventionellen Fraktionierung bei konstanter Gesamtbehandlungszeit.

Abschließend soll anhand der hier gewonnenen Ergebnisse, im Vergleich zu den Ergebnissen weiterer Experimente am FaDu-Tumor, die Fraktionierungsempfindlichkeit, mit der effektiven Fraktionierungsempfindlichkeit verglichen werden.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Tumor

Die Zelllinie FaDu wurde 1968 aus einem menschlichen Plattenepithelkarzinom des Hypopharynx etabliert und 1974 in Passage 102 in die American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, Maryland, USA) aufgenommen. Seit Mitte der achtziger Jahre wird diese Zelllinie im E. Steele Laboratory, Department of Radiation Oncology, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, USA (Prof. H. D. Suit) für Experimente *in vitro* und in Nacktmäusen eingesetzt. Tumorzellen aus Bostoner Abstammung gelangten über die Arbeitsgruppe der Abteilung für Strahlentherapie der Universität Essen (Prof. Dr. V. Budach, Prof. Dr. M. Stuschke) in die Arbeitsgruppe der Abteilung für Strahlentherapie in Hamburg (Prof. Dr. M. Baumann).

Zur Anzucht des Tumors wurden zunächst 10^6 Tumorzellen aus einer *in vitro* Zellkultur entnommen und einer Nacktmaus subkutan in die Achsel injiziert. Der hieraus entstandene Tumor bildete die erste Generation der Hamburger Tumorlinie. Die nächsten Generationen wurden durch serielle Transplantation von Tumorstückchen aus diesem ersten Tumor gewonnen. Die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse sind mit der 11. Generation dieser Tumoren erstellt worden. Um die Vergleichbarkeit zu anderen Experimenten an FaDu sicherzustellen, wurden die Histologie, das LDH-Isoenzymmuster, der DNA-Gehalt und die Volumenverdopplungszeit des Tumors überprüft.

FaDu wächst auf Nacktmäusen als niedrigdifferenziertes, nicht verhornendes Plattenepithelzellkarzinom (Zietman 1988). Die Zellen sind DNA-hyperploid mit einem flußzytometrisch bestimmten DNA-Index zwischen 1,5 und 1,7 (Baumann et al. 1990b). Im Vergleich mit anderen Experimenten mit FaDu blieb dieser Index konstant (Baumann 1994). In der LDH-Elektrophorese zeigte FaDu ein typisches humanes Bandenprofil. Mit einer mittleren Volumenverdopplungszeit unbehandelter Tumoren zwischen 100-400 mm³ von

3,7 Tagen (Standardabweichung $\pm 0,9$ Tage, Spannweite 1,8-6,3 Tage) gilt FaDu als schnell wachsender Tumor (Baumann 1994). FaDu-Tumoren zeigen als Xenotransplantat in Nacktmäusen keine oder nur geringe Immunogenität (Baumann et al. 1990b).

Der Tumor wurde in Form eines ca. 2-3 mm Kantenlänge messenden Würfels unter die Haut der Flanke des rechten Hinterbeines transplantiert. Die dazu erforderliche Anästhesie wurde durch intraperitoneale Injektion von jeweils 120 mg Ketamin (Ketanest[®]) pro kg Körpergewicht und 16 mg Xylazin (Rompun[®]) pro kg Körpergewicht gewährleistet. Die Flanke des rechten Hinterbeines wurde desinfiziert, hiernach inzidiert und nach distal ein ca. 1-1,5 cm messender Tunnel stumpf präpariert. In diesen Tunnel wurde das entsprechende Tumorstückchen verbracht. Die Inzisionswunden heilten in Sekundärheilung innerhalb von 6-8 Tagen komplikationslos ab.

2.2. Wirt

Als Wirtstiere für die Experimentaltumoren dienten thymusaplastische NMRI (nu/nu) Nacktmäuse. Es wurden für die Experimente 7-14 Wochen alte weibliche und männliche Tiere aus der Hamburger Zucht (Dr. vet. J. Dimigen, Versuchstierhaltung des Universitätskrankenhauses Eppendorf (UKE), Hamburg) verwendet. Die Tiere wurden unter Barrierebedingungen bei einer Raumtemperatur von 27° C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von mehr als 50% gehalten. Während der Zucht, der Bestrahlung und in der Nachbeobachtungszeit befanden sich die Tiere in regelmäßiger mikrobiologischer und tierärztlicher Betreuung. Die Ernährung erfolgte mit Altromin[®] Standarddiät Fertigfutter und Leitungswasser *ad libitum*. Eine Tierversuchsgenehmigung durch die Hamburger Behörde für Gesundheit und Soziales lag vor.

2.3. Tumolvolumenmessung

Zweimal wöchentlich wurden die Versuchstiere untersucht und das Tumolvolumen bestimmt. Hierzu wurde mittels einer Schieblehre die längste Tumorchse (a) und die darauf stehende Senkrechte (b) gemessen. Aus der Länge dieser Achsen wurde dann unter Verwendung der Formel für ein Rotationsellipsoid $\pi/6 \times a \times b^2$ das Tumolvolumen berechnet. Das berechnete Volumen wurde dann anhand einer zuvor erstellten Volumen-Gewichtskurve korrigiert (Baumann 1994, Abb. 2.1.).

2.4. Bestrahlungen

2.4.1. Ganzkörperbestrahlung

Zur weiteren Immunsupprimierung wurden die Experimentaltiere vor der Transplantation der Tumoren einer Ganzkörperbestrahlung mit 4 Gy unterzogen. Diese Dosis entspricht etwa einer Letalität von 1% (Baumann 1994). Die Ganzkörperbestrahlung erfolgte mit 200 kV Röntgenstrahlung (Isovolt 300, Firma Seifert, Ahrensburg) mit 0,5 mm Kupferfilter und einem 10 cm x 15 cm Tubus. Es wurden jeweils bis zu 3 Tiere gleichzeitig in Plastikröhrchen fixiert bestrahlt. Der Fokus-Haut-Abstand betrug dabei 47,5 cm, die Dosisleistung betrug ca. 1,1 Gy/min. Eine *in vivo* durchgeführte Thermolumineszenz-Dosimetrie (T-L-Dosimetrie) zeigte unter diesen Bedingungen eine maximale Dosisabweichung von -17% bezogen auf die Oberflächendosis (Baumann 1994).

2.4.2. Lokale Bestrahlung

Die lokale Bestrahlung wurde mit 200 kV Röntgenstrahlung, gefiltert mit 0,5 mm Kupfer, durchgeführt (Isovolt 300, Firma Seifert Ahrensburg). Die Strahlen wurden mit einem 10 cm x 15 cm messendem Tubus fokussiert. Der Fokus-Feld-Abstand betrug 40 cm. Daraus ergab sich auf der Haut eine Dosisleistung von 1,6 Gy/min. Es wurden jeweils 1-2 Tiere gleichzeitig

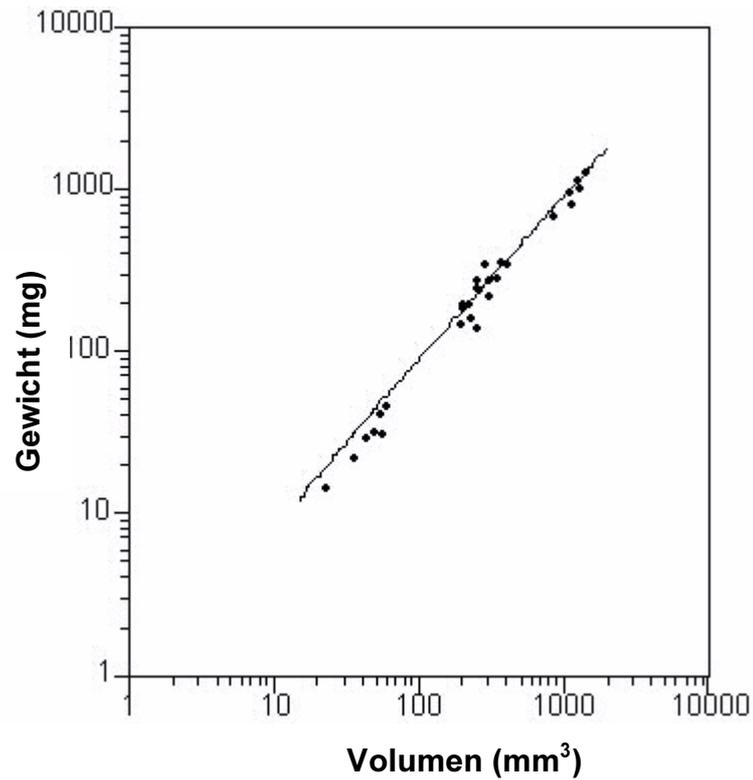


Abb. 2.1.: Volumen-Gewichts-Kurve für FaDu-Tumoren in Nacktmäusen. 27 Tumoren verschiedener Größe wurden nach ihrer Messung exzidiert, vom Wirtsgewebe befreit und gewogen. Die Daten wurden durch lineare Regression angepaßt (Baumann 1994).

bestrahlt. Hierzu wurden die Mäuse durch Plastikröhren immobilisiert und mit einer Bleiabdeckung gegen die Strahlen abgeschirmt. Das tumortragende rechte Bein wurde mit einer bleiummantelten, gepolsterten Klemme gefaßt und durch Streckung des Beines der Tumor, über den Rand der Bleiabdeckung hinaus, in den Strahlengang gezogen (siehe Abb. 2.2.). Da diese Art der Immobilisation für die Mäuse schmerzlos ist, konnte auf eine Anästhesie während der fraktionierten Strahlentherapie verzichtet werden. Hieraus ergeben sich zwei wesentliche Vorteile. Zum einen würde die häufige Anästhesie ein nicht unerhebliches Narkoserisiko bedingen. Zum anderen treten als Folge einer Narkose Änderungen der Tumordurchblutung, der Temperatur und des Oxygenierungsgrades des Blutes auf, die eine Beurteilung der so gewonnenen Daten erschweren (Zanelli und Fowler 1977, Müller-Klieser und Vaupel 1987).

2.4.3. Dosimetrie

Die Dosimetrie wurde während der Bestrahlungen mit einer geschlossenen Ionisationskammer (PTW Freiburg) durchgeführt, indem das Ausgangsgerät (SN 4-Dosimeter) den Bestrahlungsvorgang bei Erreichen der vorberechneten Monitorimpulse beendete. Dazu befand sich die Schlauchkammer in einer speziellen Halterung zwischen den Mäusen auf Höhe der zu bestrahlenden Tumoren. Die Gleichmäßigkeit der Dosisverteilung bei der lokalen Tumorthherapie wurde sowohl mit der Filmdosimetrie als auch mit der Thermolumineszenz-Dosimetrie gemessen. Hierbei standen uns Herr Dipl. Ing. H. Thurmann und Herr Dr. Heß (Medizinische Strahlenphysik, Abteilung für Strahlentherapie, UKE) hilfreich zur Seite. Abbildung 2.2. zeigt eine densitometrisch ausgewertete Filmaufnahme, die unter den im Experiment eingesetzten Bestrahlungsbedingungen aufgenommen wurde. Es ist eine homogene Dosisverteilung zu sehen, wobei beide Experimentaltumoren in der 95 % Isodose zu liegen kommen. Für die T-L-Dosimetrie wurden zunächst Tumormodelle von 4-12 mm Durchmesser aus Moulagenwachs geformt. Diese Modelle decken den Bereich von FaDu-Tumoren während des Bestrahlungszeitraumes ab. In das Zentrum eines solchen Tumormodells wurden nun mit eigens dafür angefertigten Teflonhalterungen

die T-L-Dosimeter eingebracht und unter Experimentalbedingungen, mit jeweils 2 Gy Oberflächendosis bestrahlt. Die Auswertung der TLD's ergab eine maximale Dosisabweichung von -5% im Vergleich zur Oberflächendosis.

2.4.4. Qualitätssicherung bei der lokalen Bestrahlung

Alle Bestrahlungen wurden mit einer Video-TV-Anlage überwacht und die planmäßige Bestrahlung bzw. eventuell aufgetretene Fehler in einem Bestrahlungsprotokoll eingetragen. Einmalig erhielten 11 von 301 Tieren (36%) der Behandlungsgruppe mit 30 Fraktionen in 6 Wochen aufgrund eines Bedienungsfehlers am Dosis-Anzeigegerät eine um den Faktor 3 zu hohe Fraktionsdosis. Dies entspricht einer Dosisüberhöhung von 7% bezogen auf die Gesamtdosis. Ein Tier befreite sich aus dem Bestrahlungskäfig und erhielt somit eine Ganzkörperbestrahlung an Stelle der lokalen Bestrahlung. Dieses Tier wurde aus dem Experiment entfernt. Ein weiteres Tier erhielt eine um 0.2% erhöhte Gesamtdosis. Sonstige Fehler (z.B. Verlust der Fußklemme während einer Bestrahlung, falsch eingestellte Monitor Impulse, etc.), die zu einer Dosisabweichung von $\pm 5\%$ führten, traten bei insgesamt 8 Tieren auf.

Da diese experimentellen Fehler relativ gering waren, und um die jeweiligen Gruppengrößen nicht zu klein werden zu lassen, wurden keine retrospektiven Dosiskorrekturen vorgenommen, sondern sämtliche Tiere ihrer nominellen Oberflächendosis nach ausgewertet.

2.5. Aufbau des Experiments

Die Tiere wurden zweimal wöchentlich in das Experiment aufgenommen. Die Grundlage des Experimentes bildeten zwei Behandlungsarme mit 12 bzw. 30 Fraktionen in 6 Wochen.

Jeder dieser Behandlungsarme war in fünf Dosisgruppen (50 Gy, 60 Gy, 70 Gy, 80 Gy, 90 Gy) unterteilt. Zur Verteilung der Tiere auf die

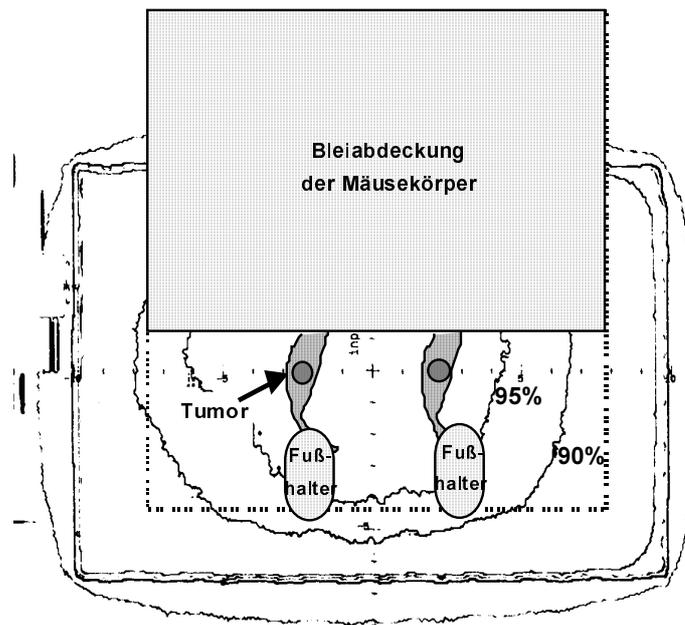


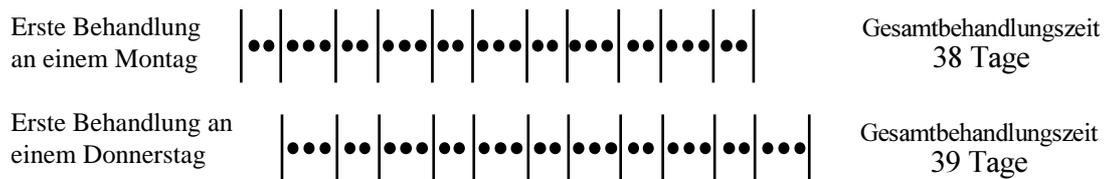
Abb. 2.2.: Experimentalanordnung zur lokalen Tumorbestrahlung mit densitometrisch ausgewerteter Filmaufnahme des Feldes. Die gleichzeitig bestrahlten Tumoren kommen innerhalb der 95%-Isodose zu liegen.

Behandlungsarme und die Dosisgruppen wurde vor Beginn des Experimentes eine Matrix erstellt, die festlegte, welcher Behandlungsgruppe das nächste Tier, dessen Tumor die festgelegte Eingangsgröße (6 mm - 8 mm mittlerer Tumordurchmesser) erreicht hatte, zugeteilt würde. In diese Matrix ging auch ein parallel durchgeführtes Experiment an FaDu-Tumoren mit ein, in welchem eine hyperfraktionierte Bestrahlung mit 60 Fraktionen in 6 Wochen (Melenkeit 1997) getestet wurde. Zusätzlich wurde eine Kontrollgruppe geführt, um die Volumenverdoppelungszeit des unbehandelten FaDu-Tumors der in diesem Experiment verwendeten Generation zu bestimmen.

Insgesamt wurden 73 Tiere in das Experiment aufgenommen. Davon verteilten sich 32 Tiere in den Experimentalarm mit 30 Fraktionen, 35 in den mit 12 Fraktionen, und 6 Tiere dienten als unbehandelte Kontrolle. Das Eingangsvolumen der Tumoren vor der ersten Bestrahlung betrug dabei im Median 132 mm^3 , 67% der Volumina lagen zwischen 113 und 175 mm^3 und 95% der Volumina zwischen 82 und 206 mm^3 .

Bei Behandlung mit 12 Fraktionen in 6 Wochen wurden die Tiere an zwei Tagen in der Woche montags und donnerstags bestrahlt. Hieraus ergibt sich, je nachdem, ob die Tiere montags oder donnerstags ihre erste Bestrahlung erhielten, eine Gesamtbehandlungszeit von 38 bzw. von 39 Tagen. Tiere, die nach dem klinischen Standardschema behandelt wurden, wurden 5 mal pro Woche von Montag bis Freitag bestrahlt. Dem klinischen Alltag der meisten strahlentherapeutischen Zentren entsprechend wurde an den Wochenenden nicht bestrahlt. Auf diese Art und Weise ergab sich für die Tiere dieser Behandlungsgruppe eine Gesamtbehandlungszeit von 39 Tagen, wenn der erste Behandlungstag ein Montag war, oder eine von 41 Tagen, wenn die erste Bestrahlung auf einen Donnerstag fiel (Abb. 2.3). Parallel zu dieser Arbeit wurde ein Experiment zur hyperfraktionierten Strahlentherapie durchgeführt (Melenkeit 1997). Der konventionelle Behandlungsarm mit 30 Fraktionen in sechs Wochen diente beiden Experimenten als Kontrollarm.

12 Fraktionen



30 Fraktionen

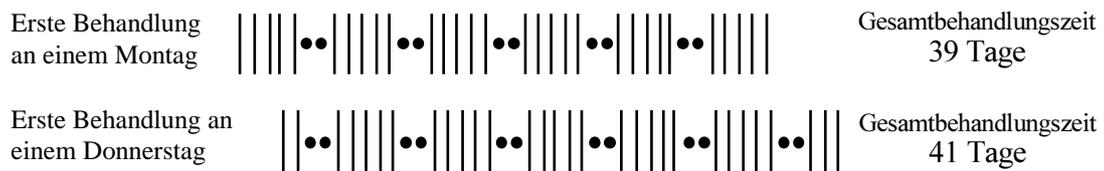


Abb. 2.3.: Schematische Darstellung der unterschiedlichen Fraktionierungsschemata. Jeder Strich entspricht einer Fraktion, jeder Punkt entspricht einem Tag ohne Behandlung. Für die montags in das Experiment eingegangenen Tumoren ergibt sich eine Gesamtbehandlungszeit von 38 Tagen bei 12 Fraktionen und von 39 Tagen bei 30 Fraktionen. Tumoren, die donnerstags in das Experiment gingen, hatten eine Gesamtbehandlungszeit von 39 Tagen bei 12 Fraktionen bzw. von 41 Tagen bei 30 Fraktionen.

2.6. Nachbeobachtung

Vor, während und nach Abschluß der Bestrahlungsserie wurden die Tiere regelmäßig zweimal pro Woche, sonntags und mittwochs, untersucht. Hierbei wurden die Tumoren vermessen bzw. das Bestrahlungsfeld auf lokale Rezidive untersucht und der Allgemeinzustand der Tiere beurteilt. Als Rezidiv galten nach lokaler Kontrolle wiederaufgetretene Tumoren, die im Gegensatz zu Vernarbungen oder ödematöser Schwellung kontinuierlich an Größe zunahmen.

Abbildung 2.4. zeigt, daß bis Tag 51 nach der letzten Bestrahlung noch Rezidive auftraten, danach nicht mehr. Insgesamt wurden 47 Tiere bis Tag 90 nach der letzten Bestrahlung beobachtet, 37 bis Tag 120 und 24 Tiere bis Tag 150 oder noch länger. Somit kann die Nachbeobachtungszeit von 120 Tagen für das vorliegende Experiment als ausreichend angesehen werden.

2.7. Lokale Kontrolle

Um die lokale Kontrolle zu bestimmen, wurden die Tiere mindestens 120 Tage nachbeobachtet. Zweimal wöchentlich wurden die Tumoren mit einer Schieblehre gemessen. Als lokale Kontrolle wurden diejenigen Tumoren gewertet, die innerhalb des Nachbeobachtungszeitraumes nicht rezidierten. Vor Ablauf des Nachbeobachtungszeitraumes können Tiere ohne Rezidiv versterben. Ein Ausschluß dieser Tiere aus dem Experiment würde dazu führen, daß die Dosis, die zur Tumorkontrolle notwendig ist, überschätzt wird. Um dies zu vermeiden, wurden diese Tiere am Tag der letzten Messung zensiert und mittels der Produkt-Limit-Methode in die Auswertung eingeschlossen (Walker und Suit 1983). Tiere wurden getötet, wenn entweder die längste Achse des Tumors eine Länge von 13-15 mm überschritt oder der Allgemeinzustand dies erforderte. Die Tumorkontrolldosis 50% (TCD_{50}), das heißt die Dosis, die notwendig ist, um 50% der Tumoren lokal zu vernichten, wurde dann mit Hilfe logistischer-Regressionsanalyse aus den lokalen Kontrolldaten berechnet.

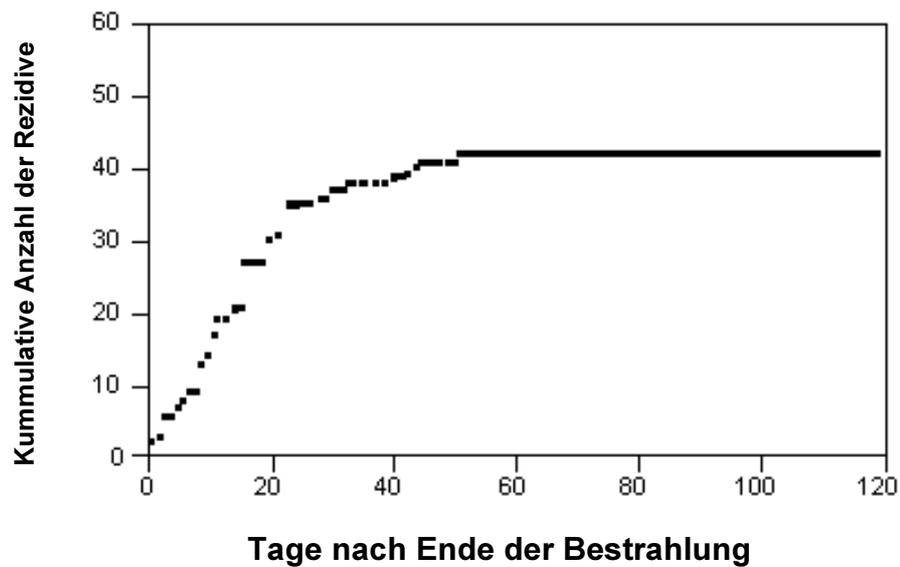


Abb. 2.4.: Kumulative Anzahl rezidivierender FaDu-Tumoren nach Bestrahlung mit 12, 30 oder 60 Fraktionen in 6 Wochen. Die Daten für 60 Fraktionen entstammen dem parallel zu dieser Arbeit durchgeführten Experiment an FaDu-Tumoren, in dem die hyperfraktionierte Strahlentherapie untersucht wurde (Melenkeit 1997, vgl. 2.6).

2.8. Tumorrezidive

Tumore, die nach dem Erreichen eines Minimalvolumens oder nach Beendigung der Therapie ein erneutes kontinuierliches Wachstum zeigten, wurden als Rezidiv gewertet. Bei mittleren Tumordurchmessern von 12-15 mm oder bei reduziertem Allgemeinzustand wurden die Nacktmäuse getötet.

2.9. Wachstumsverzögerung

Im Rahmen dieser Arbeit wird die Tumorwachstumsverzögerung als das Zeitintervall definiert, welches ein Tumor benötigt, um nach dem Ende der Bestrahlung sein Eingangsvolumen bei Eintritt in das Experiment (V_0) wieder zu erreichen. Die Ergebnisse der Wachstumsverzögerung werden durch den Effekt der Strahlentherapie auf das den Tumor umgebende Parenchym beeinflusst. So zeigen Wachstumskurven bei bestrahlten Tumoren oft eine Regression in der Geschwindigkeit des erneuten Wachstums. Diese Tatsache wird mit dem Tumorbetteffekt erklärt. Es kann durch eine Strahlentherapie zur Schädigung der den Tumor umgebenden Gefäßversorgung kommen. In der Folge erhält der Tumor ein reduziertes Sauerstoffangebot. Weitere Faktoren, wie eine ödematöse Schwellung der Tumorzellen nach der Bestrahlung oder die Immigration von Wirtszellen können die Ergebnisse der Wachstumsverzögerung beeinflussen.

Abbildung 2.5. zeigt anhand der Wachstumskurve eines Tumors aus dem Arm der Bestrahlung mit 12 Fraktionen in 6 Wochen die Bestimmung der Wachstumsverzögerung nach Ende der Bestrahlung. Zum Vergleich ist die Wachstumskurve des medianen Tumors der unbehandelten Kontrollgruppe mit abgebildet.

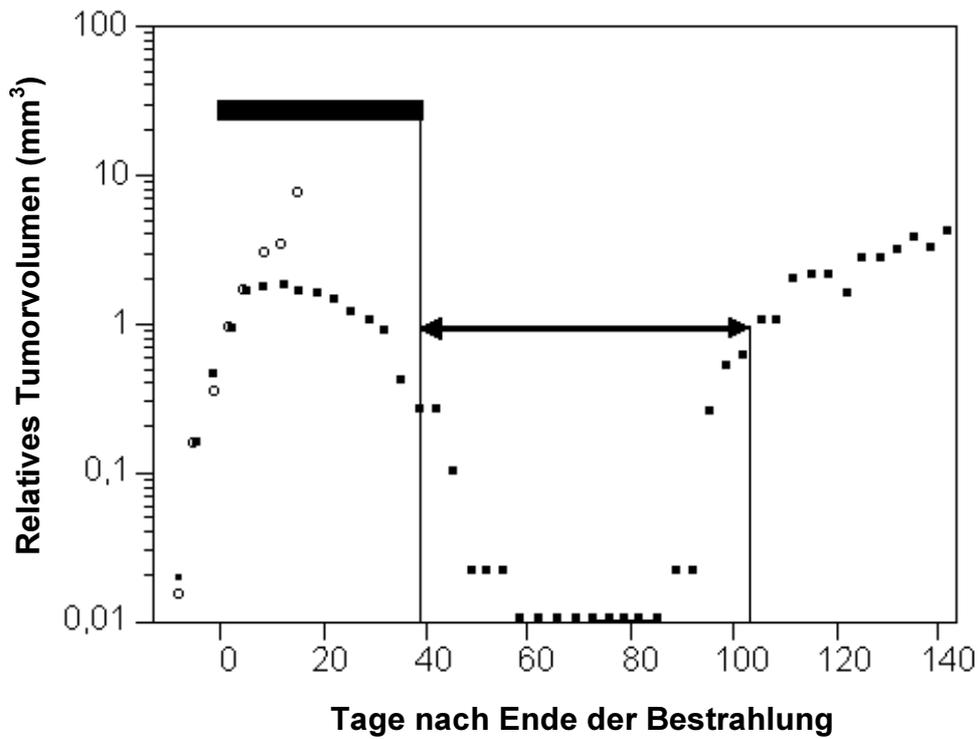


Abb. 2.5.: Gezeigt ist die Bestimmung der Wachstumsverzögerung (Pfeil) nach Ende der Bestrahlung anhand der Wachstumskurve eines Tumors der mit 12 Fraktionen in 6 Wochen bestrahlt (geschlossenen Symbole) wurde. Zum Vergleich ist der mediane Kontrolltumor mit abgebildet (offene Symbole).

2.10. Statistische Auswertung

Die logistischen Regressionen zur Bestimmung der TCD₅₀-Werte und deren Vertrauensbereiche wurden mit dem Programm "LogitA with correction for censored data 1.0" (Department of Radiation Oncology, Massachusetts General Hospital, Boston 1982; modifiziert an der University of California, San Francisco 1989) nach der Methode von Suit und Walker (1983) berechnet. Die α/β -Werte wurden zusammen mit Priv. Doz. Dr. H. H. Dubben (Abt. für Strahlentherapie, UKE, Hamburg) und Prof. Dr. M. Baumann (Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie, Technische Universität Dresden) mittels der Maximum-Likelihood-Methode bestimmt.

3. ERGEBNISSE

3.1. Lokale Tumorkontrolle

Um den Einfluß der Fraktionierung auf die Tumorkontrolle zu untersuchen, wurden die Tumorkontrollraten in den einzelnen Dosisgruppen, jeweils nach Bestrahlung mit 12 oder 30 Fraktionen in 6 Wochen ermittelt. Aus diesen Daten wurde dann die Tumorkontrollwahrscheinlichkeit (TCP) berechnet (Abb. 3.1.). Durch die für beide Fraktionierungsschemata gleichlange Gesamtbehandlungszeit von sechs Wochen wurde ein Einfluß durch Proliferation klonogener Tumorzellen während der Behandlung auf die Ergebnisse weitestgehend ausgeschlossen. Es zeigt sich ein Anstieg der Tumorkontrollwahrscheinlichkeit mit zunehmender Dosis. Die in der Abbildung gezeigten Kurven nehmen dabei in beiden Behandlungsarmen einen ähnlichen Verlauf. Aus diesen Daten wurde die Dosis bestimmt, die 50% der Tumoren lokal kontrolliert (Tumorkontrolldosis 50%; TCD₅₀). Dabei ergab sich für die hypofraktioniert mit 12 Fraktionen durchgeführte Strahlentherapie ein TCD₅₀-Wert von 70 Gy mit einem 95%-Vertrauensbereich von 61-79 Gy. Für die konventionelle Fraktionierung betrug der TCD₅₀-Wert 62 Gy mit einem 95%-Vertrauensbereich von 52 - 74 Gy (Tab. 3.1.). Der TCD₅₀-Wert für die Behandlung mit 12 Fraktionen in 6 Wochen liegt somit über dem Wert für 30 Fraktionen in 6 Wochen, die 95%-Vertrauensbereiche überlappen sich jedoch weit und schließen den jeweils anderen Wert mit ein.

Abbildung 3.2. zeigt die TCD₅₀-Werte im Verlauf des Nachbeobachtungszeitraumes nach der letzten Bestrahlung. Für die hypofraktionierte Behandlung mit 12 Fraktionen und die Behandlung mit 30 Fraktionen ist ab 60 Tagen Nachbeobachtung keine Änderung der TCD₅₀-Werte erkennbar. Dies bestätigt, daß ein Nachbeobachtungszeitraum von 120 Tagen zur Berechnung der Tumorkontrolldosen 50% ausreichend ist (vgl. Abschnitt 2.6).

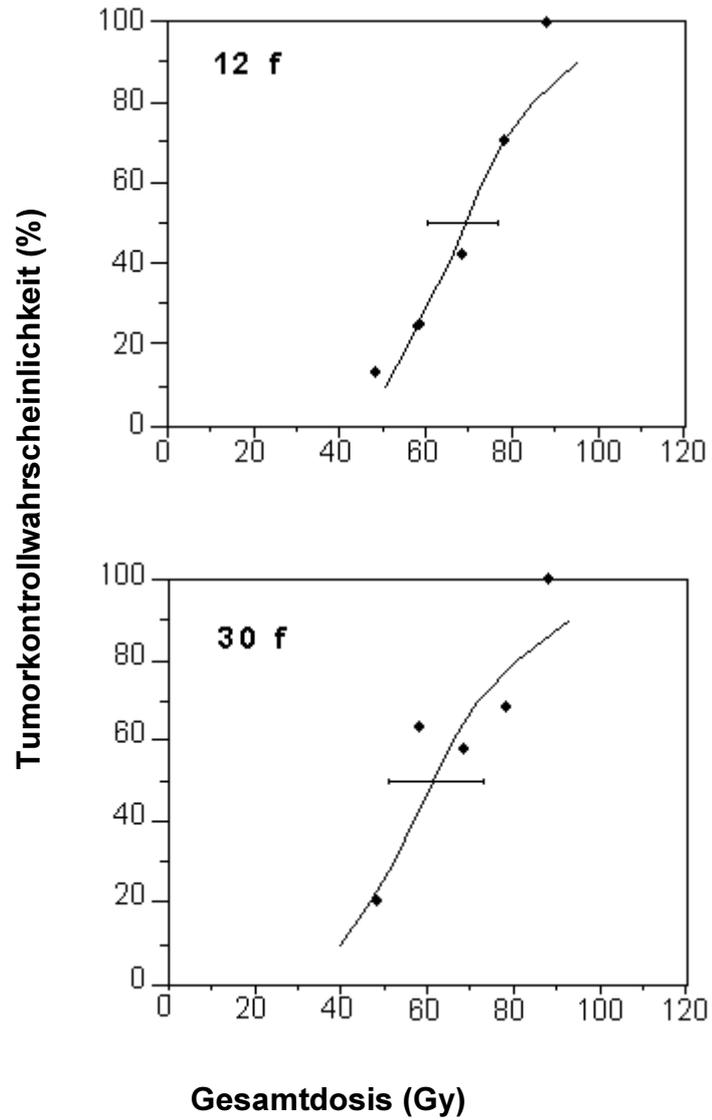


Abb. 3.1.: Tumorkontrollrate (geschlossene Symbole) und daraus berechnete Tumorkontrollwahrscheinlichkeit von FaDu-Tumoren nach Bestrahlung mit 12 (obere Abbildung) und 30 (untere Abbildung) Fraktionen. Die Fehlerbalken entsprechen den 95%-Vertrauensbereichen. Die Kurve wurde mittels logistischer Regression angepaßt.

Anzahl der Fraktionen	TCD₅₀ (Gy)	95% Vertrauensbereich
12	69,5	(61....79)
30	62,0	(52....74)

Tab. 3.1.: TCD₅₀-Werte für die Bestrahlung von FaDu-Tumoren mit 12 oder 30 Fraktionen in sechs Wochen und ihre 95%-Vertrauensbereiche.

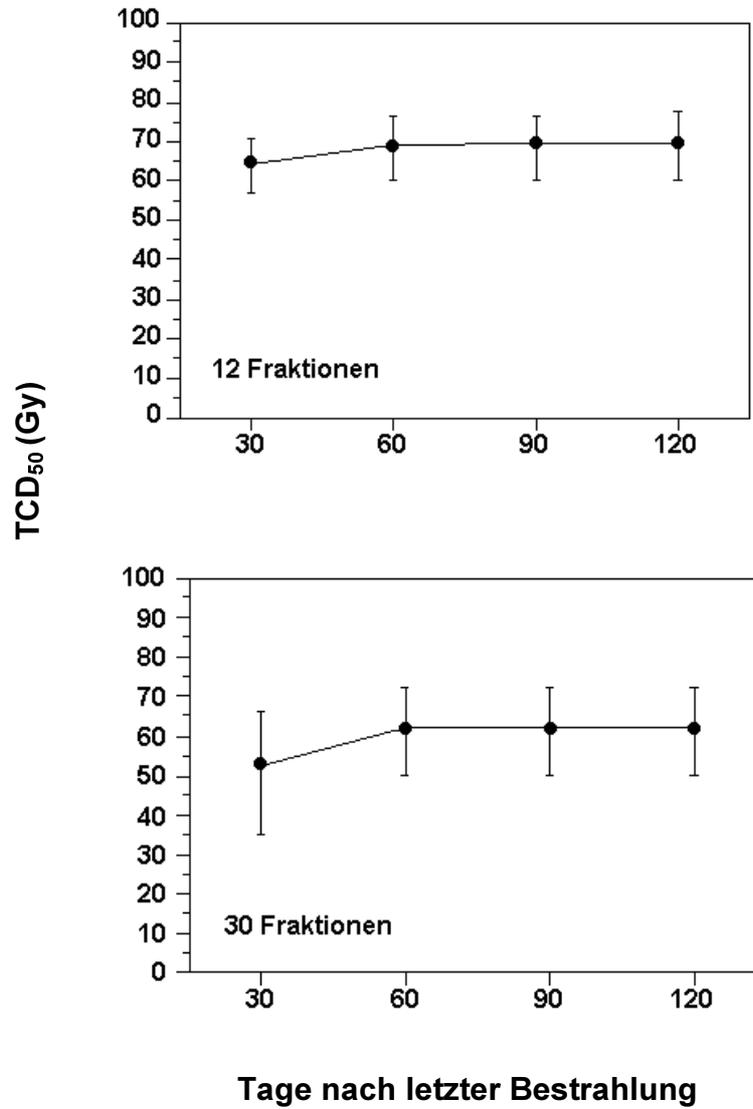


Abb. 3.2.: TCD₅₀-Werte für FaDu-Tumoren im Verlauf des Nachbeobachtungszeitraumes. Die Fehlerbalken entsprechen den 95%-Vertrauensbereichen. Die obere Grafik zeigt die Daten für 12 Fraktionen, die untere für 30 Fraktionen.

3.2. Wachstumsverzögerung

Ergänzend zur Tumorkontrolle wurde die Wachstumsverzögerung nach Bestrahlung mit 12 oder 30 Fraktionen bestimmt. In Abbildung 3.3. sind die individuellen Wachstumskurven der mit 12 Fraktionen in 6 Wochen behandelten Tumoren nach Dosisgruppen getrennt gezeigt. Aufgetragen ist das relative Volumen gegen die Zeit nach Beginn der Bestrahlung. Zum Vergleich wurde jeweils die Wachstumskurve des medianen Tumors der unbehandelten Kontrollgruppe aufgeführt. Es deutet sich ein Ansteigen der Wachstumsverzögerung mit der Dosis an. In der mit 90 Gy behandelten Gruppe wurden alle Tumoren geheilt.

Abbildung 3.4. zeigt die Wachstumskurven der mit 30 Fraktionen in 6 Wochen behandelten Tumoren für die fünf Dosisgruppen. Die Wachstumskurven der mit 50 Gy bis 80 Gy behandelten Tiere lassen keinen eindeutigen Schluß über eine mögliche Dosiseffekt-Beziehung zu. Wiederum sind in der höchsten Dosisgruppe alle Tumoren lokal kontrolliert.

Abbildung 3.5. zeigt die Wachstumsverzögerungen der mit 12 Fraktionen in 6 Wochen bestrahlten FaDu-Tumoren. Die Tumorstadiumsverzögerung wurde dabei als das Zeitintervall definiert, welches ein Tumor benötigt, um nach dem Ende der Bestrahlung sein Eingangsvolumen bei Eintritt in das Experiment (V_0) wieder zu erreichen (vgl. 2.9). Die medianen Wachstumsverzögerungen der jeweiligen Dosisgruppen sind durch Querstriche dargestellt. Die mediane Wachstumsverzögerung steigt von 7 Tagen bei Bestrahlung mit 50 Gy, über 17 Tage bei Bestrahlung mit 60 Gy und 52 Tage bei Bestrahlung mit 70 Gy bis zur lokalen Kontrolle nach Behandlung mit 80 Gy und 90 Gy an.

Abbildung 3.6. zeigt die Wachstumsverzögerung für FaDu-Tumoren nach Ende der Bestrahlung mit 30 Fraktionen in 6 Wochen. Aufgrund des hohen Anteils lokaler Kontrollen liegen die Mediane mit Ausnahme der 50 Gy-Gruppe allesamt über 80 Tagen.

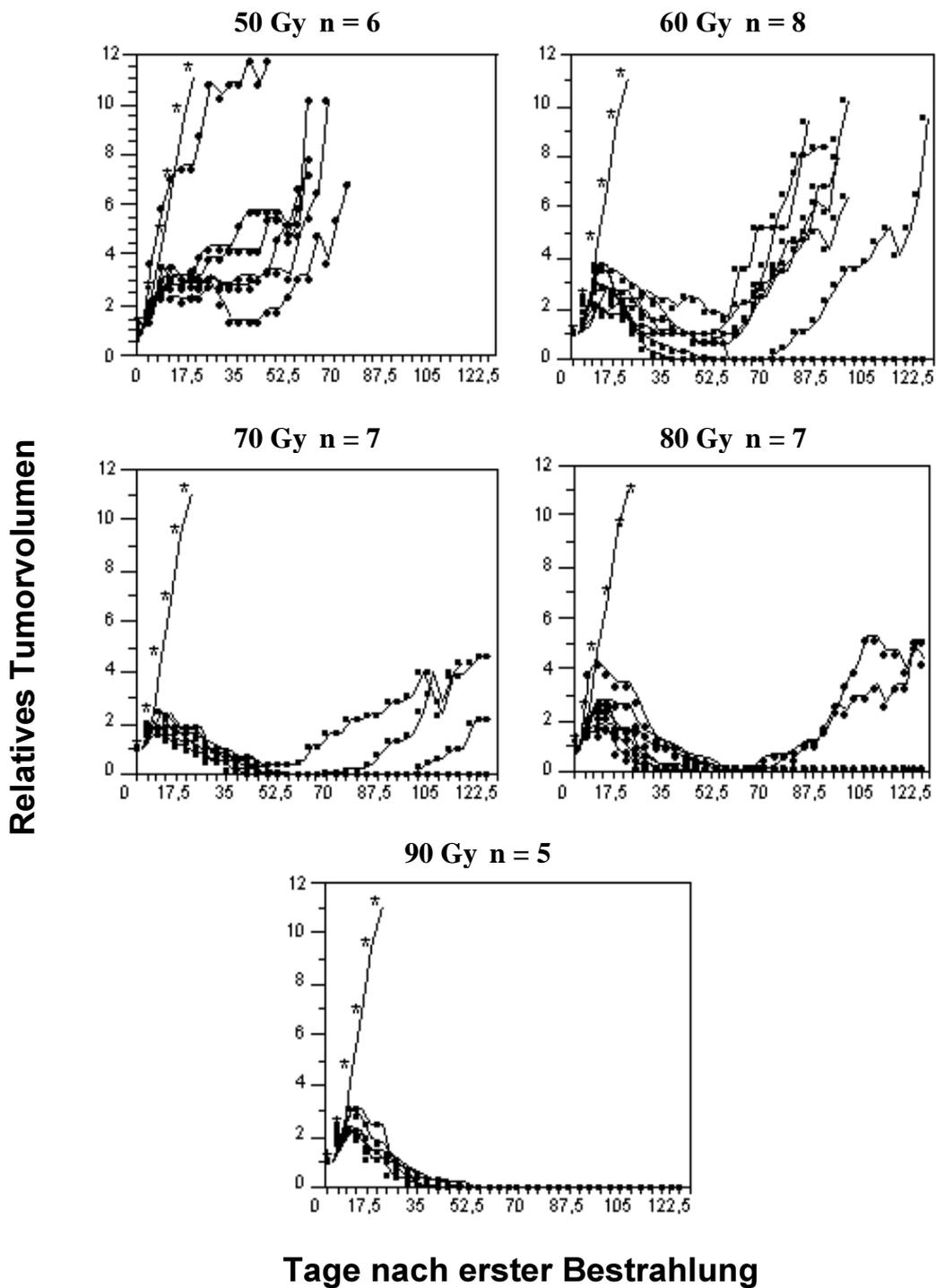


Abb. 3.3.: Wachstumskurven für FaDu-Tumoren nach Bestrahlung mit 12 Fraktionen in 6 Wochen. In jeder Grafik ist zum Vergleich der mediane unbehandelte Kontrolltumor mit abgebildet (*).

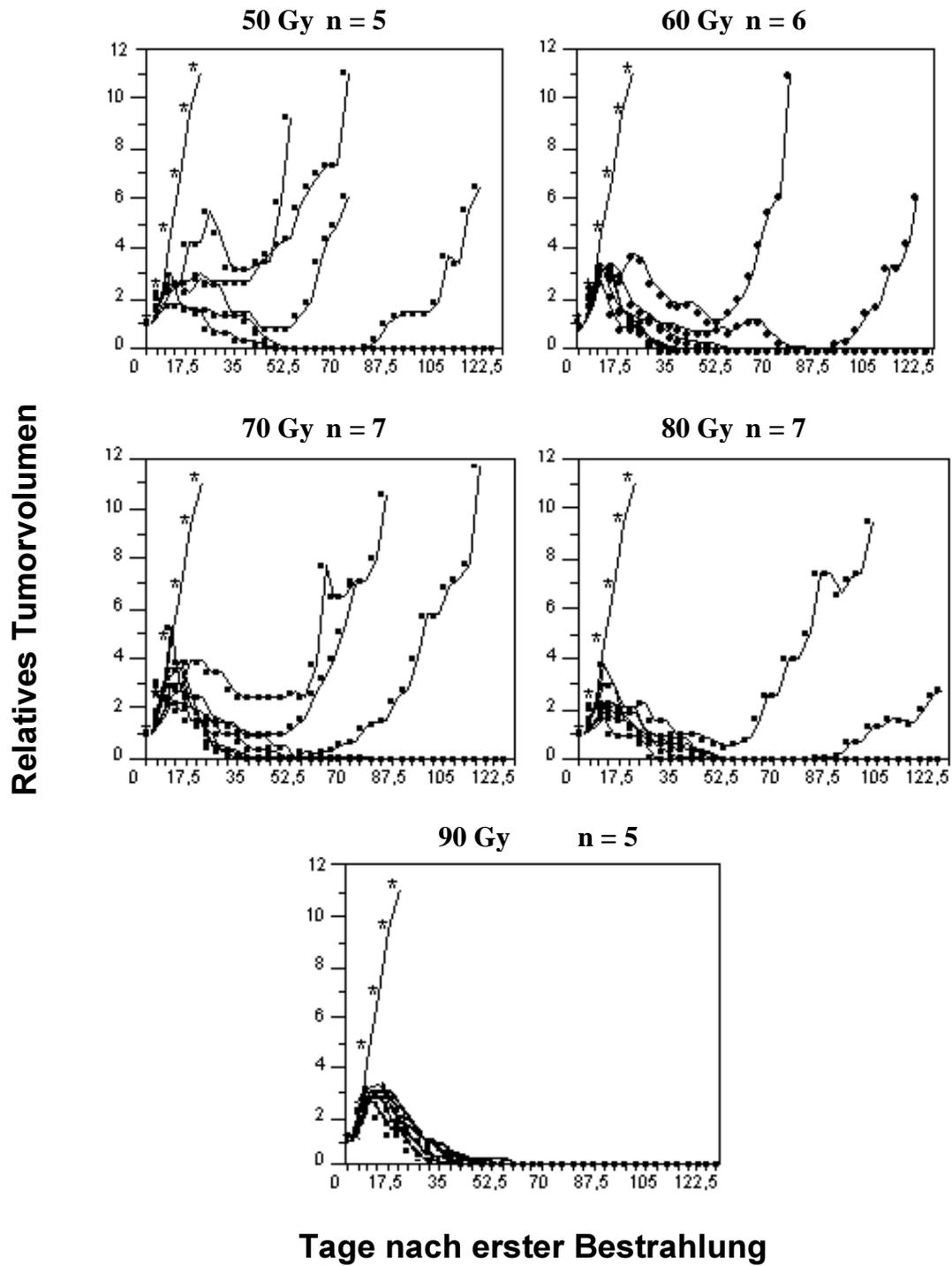


Abb.: 3.4. Wachstumskurven für FaDu- Tumoren nach Bestrahlung mit 30 Fraktionen in 6 Wochen. In jeder Grafik ist zum Vergleich der mediane unbehandelte Kontrolltumor mit abgebildet (*).

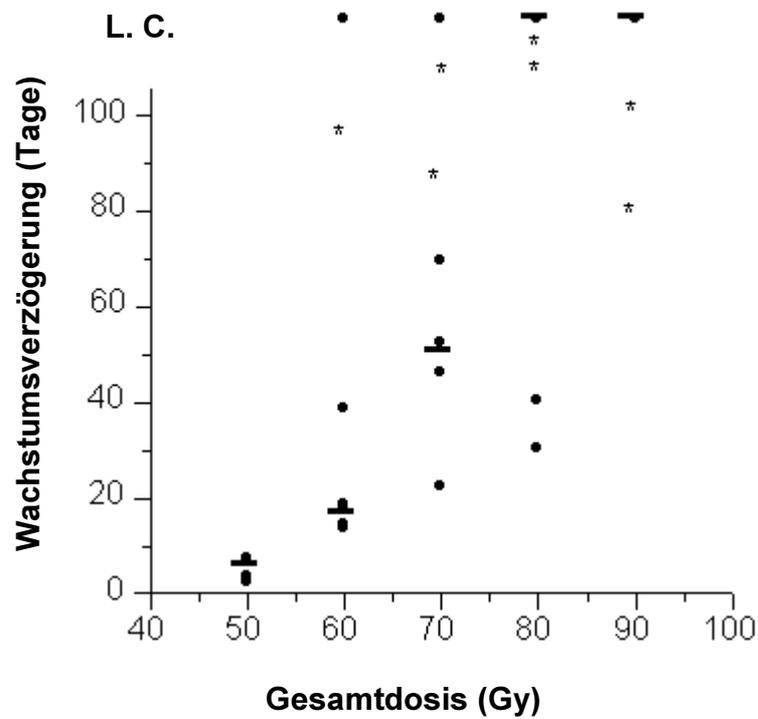


Abb.3.5.: Wachstumsverzögerung von FaDu-Tumoren nach Ende der Bestrahlung mit 12 Fraktionen in 6 Wochen, bis zum Wiedererreichen von V_0 in Abhängigkeit von der Gesamtdosis. Jedes geschlossene Symbol entspricht einem Tumor. Die medianen Tiere sind durch horizontale Linien gekennzeichnet. Zensierte Tiere sind ebenfalls dargestellt (Sternchen*), sie gingen in die Berechnung der Mediane nicht mit ein.

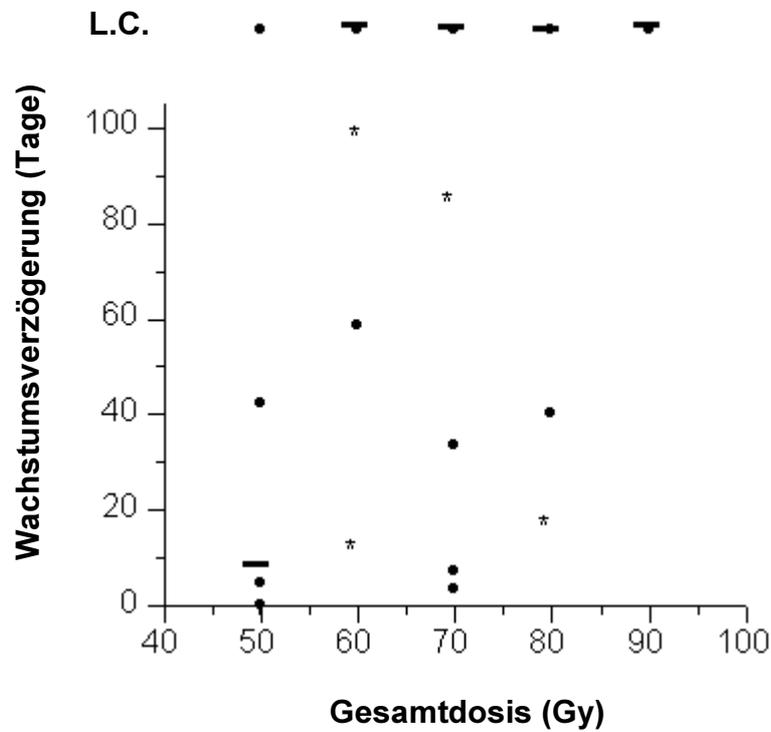


Abb. 3.6.: Wachstumsverzögerung von FaDu-Tumoren nach Ende der Bestrahlung mit 30 Fraktionen in 6 Wochen bis zum Wiedererreichen von V_0 in Abhängigkeit von der Gesamtdosis. Jedes geschlossene Symbol entspricht einem Tumor. Die medianen Tiere sind durch horizontale Linien gekennzeichnet. Zensierte Tiere sind ebenfalls dargestellt (Sternchen *), sie gingen in die Berechnung der Mediane nicht mit ein.

Insgesamt weisen die Daten für die Wachstumsverzögerung eine große Streuung auf. Sowohl nach Bestrahlung mit 12 Fraktionen als auch nach Bestrahlung mit 30 Fraktionen überlagern sich die Wertebereiche weitestgehend. Eine Dosis-Effekt-Beziehung der Wachstumsverzögerung deutet sich nach Bestrahlung mit 12 Fraktionen an, nach Bestrahlung mit 30 Fraktionen läßt sich ein solcher Effekt nur mehr erahnen. Bei Bestrahlung mit 90 Gy Gesamtdosis sind sämtliche Tumoren sowohl bei 12 Fraktionen als auch nach 30 Fraktionen lokal kontrolliert bzw. zensiert.

4. DISKUSSION

4.1. Einfluß der Fraktionierung auf die lokale Tumorkontrolle

Die lokale Tumorkontrolle wurde in Abhängigkeit von der Anzahl der Fraktionen bei einer Strahlentherapie unter klinikähnlichen Bedingungen bestimmt. Hierzu wurde der FaDu-Tumor unter ambienten Blutflußbedingungen in einer Gesamtbehandlungszeit von 6 Wochen hypofraktioniert mit 12 Fraktionen oder konventionell mit 30 Fraktionen bestrahlt.

Die in den verschiedenen Fraktionierungsarmen ermittelten TCD₅₀-Werte sind in Abbildung 4.1. dargestellt. Hierbei werden auch Daten aus dem parallel am FaDu-Tumor durchgeführten Experiment mit 60 Fraktionen in sechs Wochen berücksichtigt (vgl. Melenkeit 1997, 2.6). Es zeigt sich, daß die lokale Tumorkontrolle von der Anzahl der Fraktionen unabhängig ist. Dies heißt, daß für FaDu-Tumoren unter klinikähnlichen Bedingungen kein Fraktionierungseffekt erkennbar ist. Der TCD₅₀-Wert liegt bei Bestrahlung mit 30 Fraktionen in 6 Wochen zwar niedriger als nach Bestrahlung mit 12 und 60 Fraktionen in 6 Wochen, die 95%-Vertrauensbereiche überlappen sich jedoch weitestgehend und reichen an die jeweils anderen Werte heran.

Unter Einbeziehung aller in Abbildung 4.1. gezeigten Daten wurde der aus diesen Versuchsbedingungen resultierende effektive $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Wert (Williams et al. 1985) mit der Maximum-Likelihood-Methode bestimmt. Der $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Wert für diesen Versuchsaufbau ist unendlich groß, die untere Grenze des 95%-Vertrauensbereiches liegt bei 52 Gy. Auch in anderen Untersuchungen an verschiedenen Tumorsystemen konnte ein nur minimaler oder fehlender Fraktionierungseffekt bei Bestrahlung unter ambienten Blutflußbedingungen gezeigt werden (Gonzales und Havemann 1982, Beck-Bornholdt et al. 1985, Suit et al. 1988, Würschmidt et al. 1988, Beck-Bornholdt et al. 1989, Appold et al. 1998).

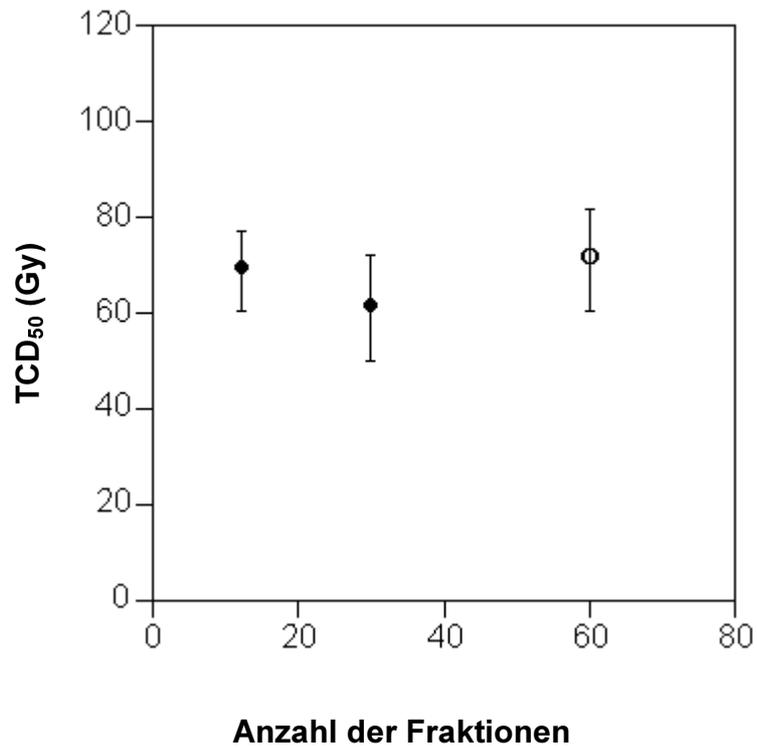


Abb. 4.1.: TCD₅₀-Werte von FaDu-Tumoren nach Bestrahlung mit 12 oder 30 Fraktionen in sechs Wochen unter ambienten Blutflußbedingungen (geschlossene Symbole). Die Fehlerbalken entsprechen den 95%-Vertrauensbereichen. Ebenfalls abgebildet sind die Daten aus dem Parallelexperiment mit 60 Fraktionen in 6 Wochen (vgl. Melenkeit 1997, 2.6., offenes Symbol).

Gonzales und Haveman (1982) bestrahlten ein murines Mammakarzinom mit einer unterschiedlichen Anzahl von Fraktionen. Die tägliche Dosis wurde in diesem Experiment konstant gehalten und aufgeteilt in eine bis zu drei Fraktionen pro Tag verabreicht. Die Gesamtbehandlungszeiten betragen 12 bzw. 19 Tage. Die Autoren konnten in ihrem Versuch keine Verkürzung der Wachstumsverzögerung mit zunehmender Fraktionierung zeigen. Aus diesen Ergebnissen folgerten die Autoren, daß mit zunehmender Fraktionierung nicht in jedem Fall die Tumorreaktion abnehmen muß.

Beck-Bornholdt et al. (1985) untersuchten den Einfluß der Anzahl der Fraktionen auf die zelluläre Inaktivierung des Lewis-Lungenkarzinoms. Die Tumoren wurden dazu *in vivo* mit einer oder zwei Fraktionen pro Tag für 10 Tage bestrahlt. Die Dosis pro Fraktion betrug zwischen 2,3 und 6,5 Gray. Nach der Bestrahlung wurde die Anzahl klonogener Tumorzellen *in vitro* mit einem Soft-Agar-Koloniebildungstest bestimmt. Die Anzahl der inaktivierten Tumorzellen hing dabei von der Dosis pro Tag, nicht aber von der Anzahl der Fraktionen ab.

Auch Suit et al. (1988) konnten in einer Untersuchung an drei murinen Tumoren keinen Fraktionierungseffekt nachweisen. Die Mäusetumoren wurden hier unter ambienten Bedingungen in 5 Tagen entweder mit 5 oder 15 Fraktionen bestrahlt. Es wurde für jeden Tumor die TCD₅₀-Werte bestimmt. Diese betragen bei Behandlung mit fünf Fraktionen für ein Mammakarzinom 84 Gy, für ein Fibrosarkom 108 Gy und 113 Gy für ein Plattenepithelkarzinom. Nach 15 Fraktionen in 5 Tagen betragen die TCD₅₀-Werte 83 Gy, 111 Gy und 104 Gy. Die Unterschiede sind nicht signifikant. Die Anzahl der Fraktionen hatte keinen Einfluß auf die Tumorkontrollwahrscheinlichkeit.

Würschmidt et al. (1988) zeigten bei Behandlung des R1H-Tumors der Ratte mit 6, 18, 30 oder 42 Fraktionen in 6 Wochen, daß sowohl die lokale Tumorkontrolle (TCD₃₇) als auch die Wachstumsverzögerung (Net-Growth-Delay) unabhängig von der Anzahl der Fraktionen waren. Es waren aber mit zunehmender Fraktionierung weniger Hautschäden zu beobachten. Die unter ambienten Blutflußbedingungen applizierten Fraktionsdosen betragen zwischen 1,07 Gy und 12,5 Gy.

In einem Folgeexperiment untersuchte dieselbe Arbeitsgruppe (Beck-Bornholdt et al. 1989) am gleichen Tumormodell die Wirkung einer hyperfraktionierten Therapie mit 126 Fraktionen. Die Gesamtdosen lagen bei einer Gesamtbehandlungszeit von 6 Wochen zwischen 54 Gy und 90 Gy. Die hier bestimmte TCD₃₇-Wert war mit 65 Gy geringer, als die von Würschmidt et al. (1988) für Bestrahlung mit 6 bis 42 Fraktionen gefundenen Werte.

Appold et al. (1996, 1998) überprüften am FaDu-Tumormodell die Wirkung palliativer Fraktionierungsschemata. Bei Bestrahlung des Tumors mit 5 oder 10 Fraktionen in 5 Tagen, unter normalen Blutflußbedingungen und einer jeweiligen Gesamtdosis von 25 Gy zeigte sich hier, bei Auswertung der Wachstumsverzögerungen, kein Fraktionierungseffekt (Appold et al. 1996). Zusätzlich wurde an diesem Tumormodell die TCD₅₀-Werte für die jeweiligen Behandlungsarme bestimmt. Diese betragen 41 Gy (95%-Vertrauensbereich 35...47) bei Behandlung mit 5 Fraktionen in 5 Tagen und 42 Gy (95%-Vertrauensbereich 36...49) bei Behandlung mit 10 Fraktionen in 5 Tagen (Appold et al. 1998). Die Fraktionierung der Gesamtdosis hatte somit keinen Einfluß auf die Wachstumsverzögerung oder auf die TCD₅₀.

Im Kontrast zu den oben dargestellten Ergebnissen zeigten Petersen et al. (1998), an dem humanen GL-Plattenepithelzellkarzinom in Nacktmäusen einen deutlichen Fraktionierungseffekt (Petersen et al. 1998). Hierbei wurden die Tumoren, wie in dem hier vorgestellten Experiment, unter klinikähnlichen Bedingungen mit 12, 30 oder 60 Fraktionen in 6 Wochen bestrahlt und danach die TCD₅₀-Werte bestimmt. Es zeigte sich, daß die Strahlendosen, die aufgewendet werden mußten, um jeweils 50% der Tumoren lokal zu kontrollieren, mit der steigenden Anzahl der Fraktionen von 37 Gy bei 12 Fraktionen, auf 45 Gy bei Applikation von 30 Fraktionen und 59 Gy bei 60 Fraktionen anstieg. Der hieran bestimmte $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Wert betrug 3 Gy (95%-Vertrauensbereich 0,6...12 Gy).

Zusammenfassend zeigt sich die zur lokalen Kontrolle von FaDu-Tumoren unter klinikähnlichen Bedingungen notwendige Strahlendosis von der Anzahl der Fraktionen weitgehend unabhängig. Der Vergleich der Ergebnisse des vorliegenden Experiments mit den Resultaten der Untersuchungen von Appold et al. (1998), am gleichen Tumor, erbringt keine Unterschiede in der generellen Aussage. Weder im Bereich von 12 oder 30 Fraktionen in sechs Wochen (vorliegende Arbeit), noch bei Behandlung mit 5 oder 10 hochdosierten Fraktionen in 5 Tagen (Appold et al. 1998) kann ein Fraktionierungseffekt nachgewiesen werden. Das dies kein Einzelfall ist, zeigen Untersuchungen an anderen Tumormodellen. Bisläng liegen Untersuchungen an fünf weiteren Tumoren vor, bei denen der Einfluß der Anzahl der Fraktionen auf die lokale Kontrolle bei Bestrahlung unter ambienten Bedingungen mit konstanter Gesamtbehandlungszeit evaluiert wurde. Die Abbildungen 4.2. und 4.3. fassen die Ergebnisse der Untersuchungen von Beck-Bornholdt et al. (1989), Suit et al. (1988), Appold et al. (1998), Petersen et al. (1998) und aus dieser Arbeit grafisch zusammen. In fünf von sechs dargestellten Tumoren war die lokale Kontrolle unabhängig von der Anzahl der Fraktionen. Eine Ausnahme bildet der GL-Tumor bei dem die lokale Tumorkontrollrate mit zunehmender Fraktionierung abnahm.

Als zweiter Endpunkt der vorliegenden Arbeit ist die Wachstumsverzögerung gemessen worden. Mit den gewonnenen Daten ist keine eindeutige Korrelation zwischen der Anzahl der Fraktionen und der Wachstumsverzögerung zu bestimmen. Dies ist dadurch bedingt, daß als Hauptendpunkt des Experimentes die lokale Tumorkontrolle gewählt wurde. Zur experimentellen Ermittlung der Dosiseffektcurve für die lokale Tumorkontrolle müssen die Gesamtdosen so gewählt und die Dosisgruppen so verteilt werden, daß etwa die eine Hälfte der Versuchstiere lokal geheilt wird, während die andere ein Rezidiv erleidet (Suit et al. 1988, Baumann et al. 1990b). Mit der aufgetretenen großen Streuung der Wachstumsverzögerung in den so gewählten Dosisgruppen ist keine gesicherte Aussage zum Einfluß der Anzahl der Fraktionen auf die Wachstumsverzögerung zu gewinnen.

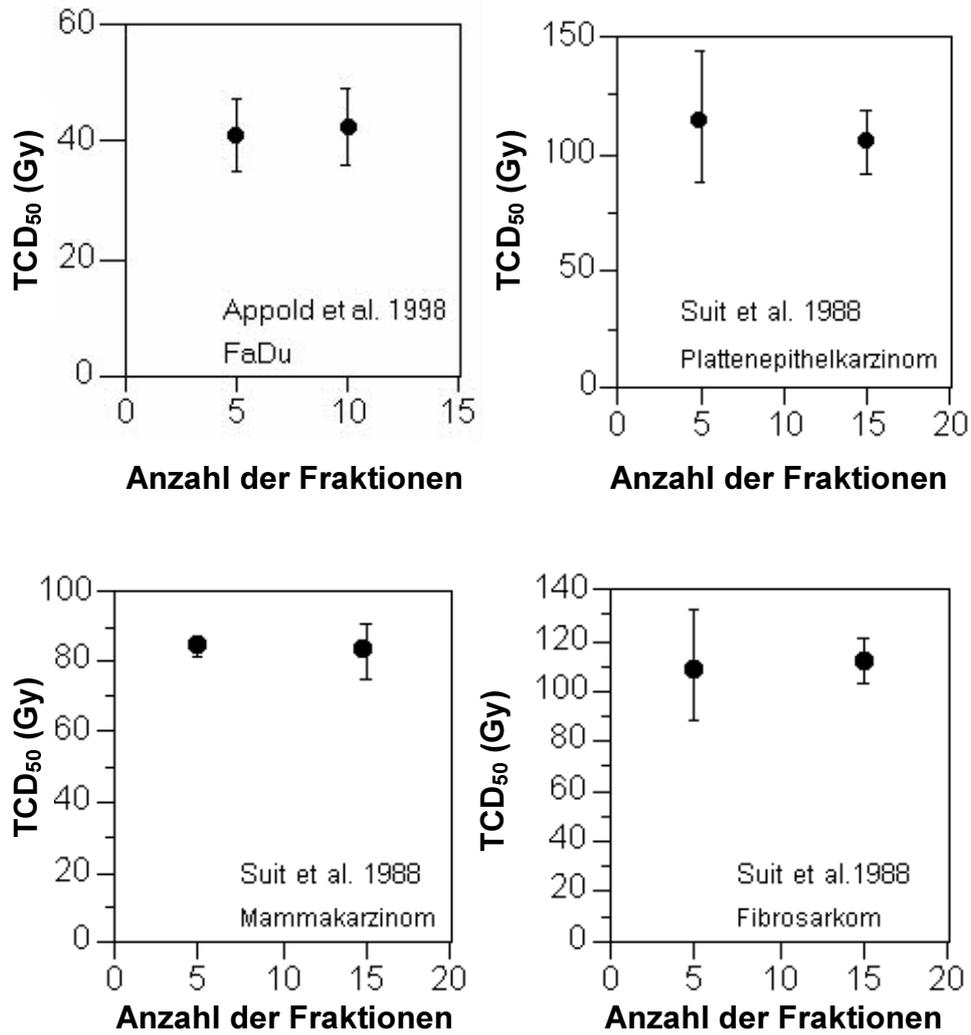


Abb. 4.2.: Zusammenfassende Darstellung der unter 4.1. diskutierten Experimente aus der Literatur mit 5 und 10 Fraktionen in 5 Tagen (Appold et al. 1998) bzw. 5 und 15 Fraktionen in 5 Tagen (Suit et al. 1988).

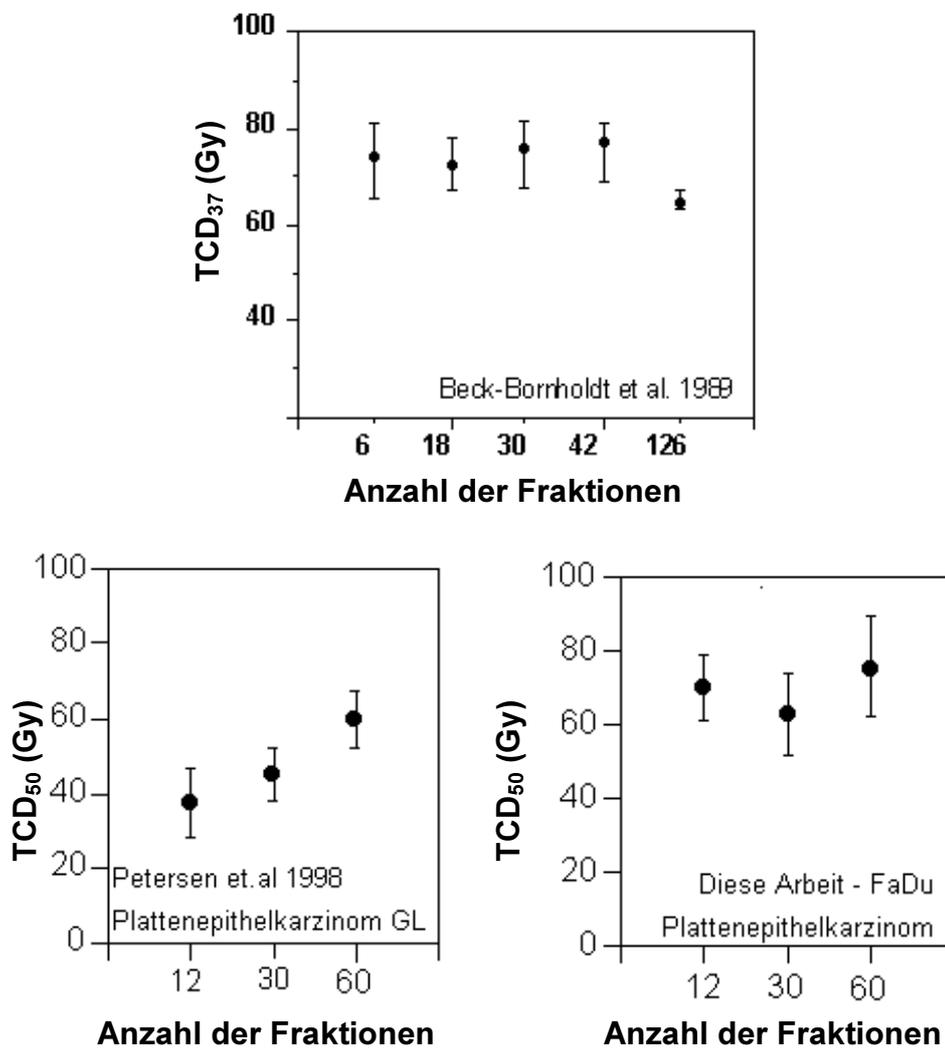


Abb. 4.3.: Zusammenfassende Darstellung der unter 4.1. diskutierten Experimente aus der Literatur, mit Fraktionierungen von 6, 18, 30, 42 oder 126 Fraktionen (Beck-Bornholdt et al. 1989) bzw 12, 30 oder 60 Fraktionen bei einem Gesamtbehandlungszeitraum von 6 Wochen (Petersen et al. 1998, diese Arbeit), sowie der eigenen Untersuchung.

4.2. Vergleich der Fraktionierungsempfindlichkeit ($\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Wert) nach klinikrelevanter Fraktionierung mit der Erholungskapazität von FaDu-Tumorzellen *in vitro* und *in vivo* (α/β -Wert)

In anderen Bestrahlungsexperimenten sind für den FaDu-Tumor *in vivo* unter hypoxischen Bedingungen bereits α/β -Werte bestimmt worden. Um den Einfluß der Reoxygenierung hierbei weitestgehend auszuschließen, wurden die Tumoren dabei unter abgeklemmtem Blutfluß in 3,5 Tagen mit 1, 2, 4 und 8 Fraktionen bestrahlt (Baumann 1994). Die so bestimmten TCD₅₀-Werte wurden in Abb. 4.4. gegen die Anzahl der Fraktionen aufgetragen. Mit zunehmender Fraktionierung ist ein Anstieg der TCD₅₀-Werte zu erkennen. Die aus diesen Daten mit der Maximum-Likelihood-Methode berechneten α/β -Werte betragen 39 Gy (95%-Vertrauensbereich 24...59) für 1, 2, 4 und 8 Fraktionen bzw. 32 Gy (95%-Vertrauensbereich 11...100) für 2, 4 und 8 Fraktionen.

Diese in Hamburg gemessenen α/β -Werte stimmen im Rahmen experimenteller Schwankungen gut mit den 1990 in Boston bestimmten α/β -Werten überein. Dort betragen die im FaDu-Tumor als Xenotransplantat auf Nacktmäusen unter homogen hypoxischen Bedingungen gemessenen α/β -Werte bei 1, 2, 4 und 8 Fraktionen 41 Gy und bei 2, 4 und 8 Fraktionen 23 Gy. Die Gesamtbehandlungszeit betrug drei Tage, zwischen den jeweiligen Fraktionen lagen immer mindestens vier Stunden (Zietman et al. 1990).

Korrigiert man die in Hamburg gemessenen Werte mit einem Sauerstoffverstärkungsfaktor für aerobe Verhältnisse von 2.7, so ergeben sich α/β -Werte von 15 Gy (95%-Vertrauensbereich 8...22) und 12 Gy (95%-Vertrauensbereich 4...37) (Baumann 1994).

Die Verwendung eines solchen konstanten Sauerstoffverstärkungsfaktors wird kontrovers beurteilt. So fehlen genaue Angaben zur Größe des Sauerstoffverstärkungseffektes *in vivo*. Es gibt darüber hinaus, aus *in vitro* Experimenten, Hinweise für einen kleineren Sauerstoffverstärkungseffekt im Bereich niedriger Fraktionsdosen. Die Verwendung eines Korrektionsfaktors

ist jedoch unumgänglich, wenn unter Hypoxie bestimmte α/β -Werte mit unter klinischen Bedingungen gemessenen $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Werten verglichen werden sollen. (Williams et al. 1985, Thames et al. 1985, Zietmann et al. 1990). Für die Verwendung eines solchen konstanten Sauerstoffverstärkungsfaktors spricht in diesem Fall auch die Tatsache, daß alle unter Hypoxie eingestrahlten Dosen deutlich über den Dosen lagen, bei denen ein reduzierter Sauerstoffeffekt *in vitro* beobachtet wurde (Palcic et al. 1982).

Neben den Bestrahlungsexperimenten *in vivo* ist in Hamburg auch *in vitro* ein α/β -Wert für FaDu-Zellen bestimmt worden (Baumann 1994). Dazu wurden Einzelzellsuspensionen unter aeroben Bedingungen mit Einzeldosen von 1 bis 10 Gray bestrahlt und danach die jeweiligen Überlebensfraktionen bestimmt (Abb. 4.5.). Die gezeigte Dosiseffektkurve ist nach dem LQ-Modell angepaßt.

Sie zeigt eine gering ausgeprägte, aber eindeutige Schulter im Bereich kleiner Dosen. Der α/β -Wert entspricht hier 8,5 Gy. Diese Versuchsanordnung läßt auch die getrennte Berechnung der Werte für α und β zu. So wurde für α ein Wert von $0,34 \text{ Gy}^{-1}$ (95%-Vertrauensbereich 0,27...0,41) und für β ein Wert von $0,040 \text{ Gy}^{-2}$ (95%-Vertrauensbereich 0,032...0,048) bestimmt.

Ein erheblich höherer α/β -Wert von 40 Gy wurde für FaDu-Zellen *in vitro* von Stuschke et al. publiziert. In einem Fraktionierungsexperiment hatte man dort Tumorzell-Sphäroide bestrahlt und das Tumorüberleben mit einem Koloniebildungstest in Soft-Agar bestimmt. (Stuschke et al. 1992). Die verschiedenen hohen α/β -Werte bei Untersuchungen an der gleichen Tumorzelllinie in zwei verschiedenen *in vitro* Experimentalsystemen können derzeit nicht erklärt werden.

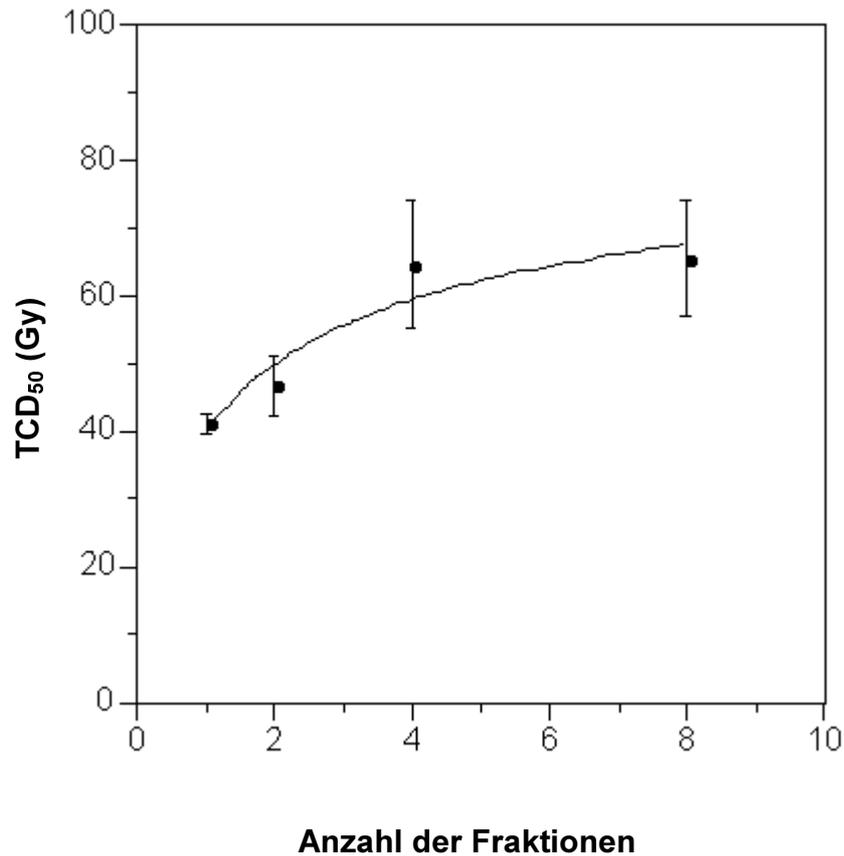


Abb. 4.4.: TCD₅₀-Werte für FaDu-Tumoren nach Bestrahlung mit 1, 2, 4 oder 8 Fraktionen in 3,5 Tagen unter abgeklemmtem Blutfluß. Die durchgezogene Linie ist mit dem nach der Maximum-Likelihood-Methode gefundenen α/β -Wert von 39 Gy berechnet worden. Die Fehlerbalken entsprechen dem 95%-Vertrauensbereich (Baumann 1994).

Insgesamt zeigen die FaDu-Zellen sowohl *in vivo* unter abgeklemmten Blutfluß als auch *in vitro* eine Erholung vom subletalen Strahlenschaden. Die Erholungskapazität ist in Anbetracht der hohen bestimmten α/β -Werte als vergleichsweise gering anzusehen. Bei Untersuchung des Tumors *in vivo* im Bereich klinischer Fraktionierung mit 12 bis 60 Fraktionen in 6 Wochen unter ambienten Blutflußbedingungen ist der $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Wert unendlich groß, bei einer unteren Grenze des 95%-Vertrauensbereiches von 52 Gy. Dies wurde auch im Bereich palliativer Fraktionierungsschemata bestätigt. So konnte bei Bestrahlung mit 5 bzw. 10 Fraktionen in 5 Tagen unter ambienten Bedingungen kein Fraktionierungseffekt nachgewiesen werden (Appold et al. 1998).

Für den FaDu-Tumor ist der unter abgeklemmten Blutflußbedingungen bestimmte α/β -Wert statistisch signifikant kleiner als der unter klinikähnlichen Bestrahlungsbedingungen bestimmte $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Wert. Eine zunehmende Fraktionierung der Gesamtdosis führt bei gleicher Gesamtbehandlungszeit unter klinischen Bedingungen nicht zu dem Verlust an Tumorkontrolle, der zu erwarten wäre, wenn man den α/β -Wert zugrunde legte.

Ein bei Bestrahlung unter klinikähnlichen Bedingungen *in vivo* ($\alpha/\beta_{\text{eff}}$) von dem *in vitro* und *in vivo* unter clamped Bedingungen (α/β) abweichendes Fraktionierungsverhalten wurde auch in anderen Tumormodellen gefunden. So beträgt nach Bestrahlung des R1H-Tumor der Ratte *in vivo* und Auswertung der Tumorvernichtung im Koloniebildungstest der α/β -Wert 1 Gy (Vogler et al. 1988).

Wie bei dem in dieser Arbeit vorgestellten FaDu-Tumor ließ sich jedoch auch beim R1H-Tumor mit zunehmender Anzahl der Fraktionen bei Bestrahlung unter ambienten Blutflußbedingungen kein Fraktionierungseffekt mehr nachweisen. Anders als im Vorexperiment ist der $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Wert unter diesen Bedingungen unendlich groß (Würschmidt et al. 1988, Beck-Bornholdt et al. 1989). Ein Teil des Unterschiedes zwischen dem α/β -Wert und dem $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Wert mag durch die Tatsache erklärt sein, daß die Tumorzellen zur Bestimmung des α/β -Wertes aus ihrer natürlichen Umgebung entfernt wurden.

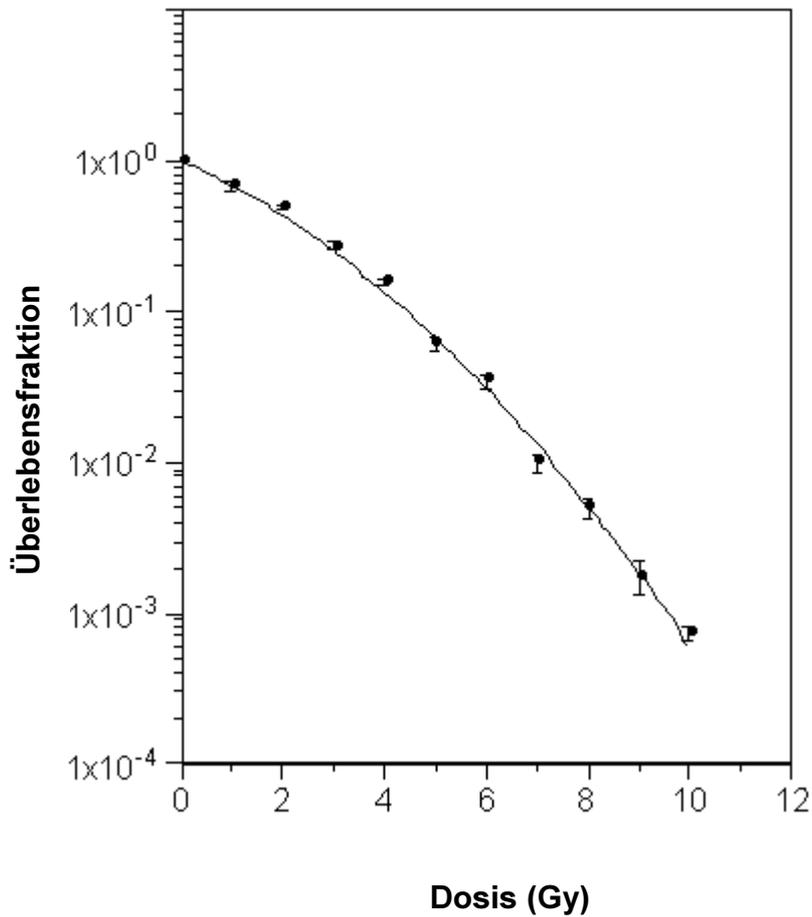


Abb. 4.5.: Überlebenskurve für FaDu-Zellen *in vitro*. Exponentiell wachsende Zellen wurden unter aeroben Bedingungen bestrahlt. Symbole und Fehlerbalken kennzeichnen Mittelwerte und Standardfehler aus 3-4 Experimenten. Nicht sichtbare Fehlerbalken kommen innerhalb der Symbole zu liegen. Die Daten wurden mit dem Linear-Quadratischen-Modell (durchgezogene Linie) angepaßt (Baumann 1994).

Die Vermutung, daß der beobachtete Unterschied kein Artefakt ist, wird jedoch durch andere *in vivo* Experimente am selben Tumormodell gestützt. So konnte während einer fraktionierten Bestrahlung des R1H-Tumors über sechs Wochen durch Aufteilen der täglichen Fraktionen in zwei Dosen im Intervall von zwei Stunden eine deutliche Erholung vom subletalen Strahlenschaden für den R1H-Tumor nachgewiesen werden (Würschmidt et al. 1992).

Im Gegensatz zum FaDu-Tumor und zum R1H-Tumor zeigte ein als Xenotransplantat in Nacktmäusen wachsendes verhornendes Plattenepithelzellkarzinom (GL) in einem Fraktionierungsversuch mit 12, 30 oder 60 Fraktionen in 6 Wochen unter normalen Blutflußbedingungen einen deutlichen Fraktionierungseffekt. Der für den GL-Tumor unter ambienter Bestrahlung bestimmte $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Wert von 3,0 Gy ist in diesem Falle deutlich kleiner als der α/β -Wert von 49,5 Gy bei Bestrahlung unter Hypoxie mit 1, 2, 4 oder 8 Fraktionen in 3,5 Tagen. Die Autoren schlußfolgerten, daß andere Faktoren als die Erholung das Verhalten dieses Tumors unter kliniknaher Bestrahlung beeinflussen (Petersen et al. 1998).

Es ist also neben dem FaDu-Tumor in zwei anderen Tumormodellen eine Differenz zwischen dem unter hypoxischen Bedingungen bestimmten α/β -Wert und dem unter klinikähnlichen Bedingungen bestimmten $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Wert nachgewiesen worden. Dabei war für den FaDu-Tumor, wie auch für den R1H-Tumor der Ratte, die effektive Erholungskapazität unter ambienten Bedingungen kleiner als unter Hypoxie, während das humane Plattenepithelzellkarzinom GL unter klinikähnlichen Bedingungen eine höhere effektive Erholungskapazität aufwies.

Für den FaDu-Tumor ist davon auszugehen, daß neben der niedrigen Erholungskapazität andere Einflußfaktoren das fehlende Ansteigen der TCD₅₀-Werte mit zunehmender Anzahl der Fraktionen bedingt haben. So könnte die

Redistribution von Zellen in empfindlichere Zellzyklusphasen die Wirkung einer höher fraktionierten Behandlung verstärkt haben. Auch eine bessere Reoxygenierung bzw. ein reduzierter Sauerstoffeffekt bei kleineren Fraktionsdosen, wie sie bei Behandlung mit 30 und 60 Fraktionen in 6 Wochen verwendet wurden, kann die Effektivität einer Strahlentherapie, bei steigender Anzahl der Fraktionen, erhöhen. Das unterschiedliche Verhalten gegenüber einer stärker fraktionierten Strahlentherapie zwischen dem FaDu-Tumor und dem R1H-Tumor einerseits und dem GL-Tumor andererseits, lässt vermuten, daß diese Mechanismen in den verschiedenen Tumorsystemen entweder verschieden stark wirksam sind, oder daß andere Mechanismen im GL-Tumor überwogen haben.

Eine Verringerung der Erholungskapazität nach multiplen Fraktionen könnte die höher fraktionierten Behandlungsschemata, im FaDu-Tumor bzw. im R1H-Tumor begünstigt haben. Ein solcher Effekt ist bei der Bestrahlung von Mäusefibroblasten und Chinesischen-Hamster-Zellen *in vitro* gezeigt worden (McNally und Ronde 1976, Zeman und Bedford 1985). Darüberhinaus deuten Untersuchungen an der Mundschleimhaut von Mäusen *in vivo* darauf hin, daß durch die Repopulierungsantwort dieses Gewebes die Erholungskapazität von Stammzellen während der fraktionierten Bestrahlung abnehmen kann (Dörr et al. 1998). Ob sich solche Veränderungen der Erholungskapazität bei Tumoren nachweisen lassen, müssen weitere Untersuchungen zeigen. Um die sinkende Effektivität einer stärker fraktionierten Strahlentherapie beim GL-Tumor zu erklären ist davon auszugehen, daß ein solcher Effekt im GL-Tumor nicht oder zumindest deutlich schwächer als im FaDu-Tumor bzw. im R1H-Tumor wirksam war. Wiederum ist nicht auszuschließen, daß im GL-Tumor andere bisher unvollständig erforschte Ursachen diesen Effekt aufgehoben haben.

Ein direkter Einfluß der Repopulierung auf die Ergebnisse wurde durch die gleichlange Behandlungszeit in allen Experimentalarmen minimiert. Darüber hinaus wurde darauf geachtet, daß die Intervalle zwischen den Fraktionen immer mindestens acht Stunden betragen, so daß die Reparatur von Strahlenschäden als abgeschlossen angesehen werden kann (Guttenberger 1990).

4.3. Zusammenfassende Diskussion und Ausblick

Bei einer Strahlentherapie von FaDu-Tumoren unter klinikähnlichen Bedingungen mit 12 bis 60 Fraktionen in 6 Wochen hat die Anzahl der Fraktionen keinen Einfluß auf die lokale Tumorkontrolle. Auch andere experimentelle und klinische Studien haben bereits ähnliche Ergebnisse erbracht. Der $\alpha/\beta_{\text{eff}}$ -Wert von FaDu-Tumoren nach Bestrahlung über sechs Wochen unter ambienten Bedingungen liegt höher als die am gleichen Tumor *in vitro* und unter hypoxischen Bedingungen mit wenigen Fraktionen *in vivo* bestimmten α/β -Werte. Es ist wahrscheinlich, daß neben der niedrigen Erholungskapazität andere Faktoren wie Reoxygenierung und Redistribution die Tumorkontrolle in diesem Experimentaldesign beeinflusst haben.

Die Ergebnisse dieser Studie und die Ergebnisse an vier von fünf weiteren zuvor untersuchten Tumormodellen (vgl. 4.1) legen nahe, daß mit zunehmender Fraktionierung die Wirkung einer Strahlentherapie auf den Tumor nicht verringert sein muß. Somit erscheint eine hypofraktionierte Therapie, also die Applikation weniger hochdosierter Fraktionen, einer konventionell fraktionierten Therapie in Bezug auf die Tumorvernichtung nicht überlegen. Eine hypofraktionierte Behandlung ließe aber eine erhöhte Rate später Nebenwirkungen erwarten, da diese mit zunehmender Dosis pro Fraktion deutlich zunehmen (vgl. Einleitung S. 5). Einschränkend ist anzumerken, daß die am FaDu-Tumor gefundenen Resultate anscheinend für viele, jedoch nicht für alle Tumoren gültig sind. Ausnahmen sind im experimentellen Bereich für den GL-Tumor (Petersen et al. 1998) und im klinischen Bereich für Melanome und Liposarkome (Thames and Suit 1986, Bentzen et al. 1989, Thames et al 1990) beschrieben worden. Die Ursachen dieser Ausnahmen sind bislang nur unvollständig evaluiert.

Daher erscheinen Untersuchungen an weiteren Experimentaltumoren im Bereich klinischer Fraktionierungsschemata sinnvoll um genauere Aussagen zu den Wirkmechanismen einer fraktionierten Strahlentherapie zu erhalten. Die Ergebnisse solcher Untersuchungen würden es in Zukunft ermöglichen, das jeweils optimale Bestrahlungsschema für die vorliegende Tumorentität zu ermitteln.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In dem hier vorgestellten Experiment ist der Einfluß der Anzahl der Fraktionen auf die lokale Tumorkontrolle eines humanen FaDu-Plattenepithelkarzinoms als Xenotransplantat in Nacktmäusen bei einer Strahlentherapie unter klinikähnlichen Bedingungen bestimmt worden. Dazu wurden die Tumoren in 6 Wochen bei ungestörten Blutflußbedingungen entweder hypofraktioniert mit 12 Fraktionen oder konventionell fraktioniert mit 30 Fraktionen bestrahlt. Als experimenteller Endpunkt wurde die Tumorkontrolldosis 50 % nach 120 Tagen bestimmt.

Der TCD₅₀-Wert bei Bestrahlung mit 12 Fraktionen betrug 69 Gy (95%-Vertrauensbereich 61...79 Gy). Bei der konventionellen Behandlung mit 30 Fraktionen in 6 Wochen ergab sich ein Wert von 62 Gy (95%-Vertrauensbereich 52...74 Gy). In einem Parallelexperiment von Melenkeit (1997) wurde für eine Strahlentherapie mit 60 Fraktionen in 6 Wochen ein TCD₅₀-Wert von 74 Gy (95%-Vertrauensbereich 62...90 Gy) bestimmt. Die TCD₅₀-Werte der unterschiedlichen Fraktionierungsschemata sind nicht signifikant verschieden. In der Zusammenschau der Experimente zeigt sich, daß die TCD₅₀-Werte bei Behandlung unter klinikähnlichen Bedingungen in konstanter Gesamtbehandlungszeit unabhängig von der Anzahl der Fraktionen ist. Der aus den Daten dieser Experimenten bestimmte effektive α/β -Wert ist unendlich groß. Die untere Grenze des 95%-Vertrauensbereiches liegt bei 52 Gy.

Zum großen Teil läßt sich das Fehlen eines Fraktionierungseffektes, bei Bestrahlung von FaDu-Tumoren unter klinikähnlichen Bedingungen, durch die geringe Erholungskapazität vom subletalen Strahlenschaden erklären. Darüberhinaus scheinen jedoch auch weitere Einflußfaktoren wie die Redistribution und die Reoxygenierung, das Ergebnis der fraktionierten Strahlentherapie von FaDu-Tumoren zu beeinflussen.

Die vorliegenden Resultate unterstützen den klinischen Grundsatz bei kurativen Behandlungsansätzen keine hypofraktionierten Bestrahlungsschema einzusetzen. Diese erreichen in der Regel keine bessere Tumorstärke, erhöhen aber die Rate und den Schweregrad später Nebenwirkungen deutlich.

6. LITRATURVERZEICHNIS

Appold S, Baumann M, Liertz C, Horn K, Eichhorn F: Wirksamkeit palliativer Fraktionierungsschemata am Plattenepithelzellkarzinom in Nacktmäusen. In Beck-Bornholdt HP, Baumann M (Hrsg.) Experimentelle Strahlentherapie und klinische Strahlenbiologie 5, Hamburg: 91-94, 1996.

Appold S, Baumann M, Peteresen C, Horn K, Eichhorn F: Comparison of the response of human FaDu squamous cell carcinoma in nude mice after hypofractionated-accelerated regimens and „curative“ fractionation schedules, Strahlenther. Onkol. 174: 315-319, 1998.

Baumann M, Suit HD, Sedlacek RS: Metastases after fractionated radiation therapy of three murine tumor models. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 19: 367-370, 1990a.

Baumann M, duBois W, Suit HD: Response of human squamous cell carcinoma xenografts of different sizes to irradiation: Relationship of clonogenic cells, cellular radiation sensitivity in vivo, and tumor rescuing units. Radiat. Res. 123: 325-330, 1990b.

Baumann M, duBois W, Pu A, Freeman J, Suit HD: Response of xenografts of human malignant gliomas and squamous cell carcinomas to fractionated irradiation. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 23: 803-809, 1992.

Baumann M: Fraktionierte Strahlentherapie menschlicher FaDu-Plattenepithelkarzinome in Nacktmäusen. Habilitationsschrift, Universität Hamburg, 1994.

Baumann M, Liertz C, Budach W, Kleineidam M: Local Control as an End Point in experimental radiation therapy of human tumor xenografts. Contrib. Oncol. 51: 154-160, 1996.

Beck-Bornholdt HP, Peacock JH, Stephans TC: Kinetics of cellular inactivation by fractionated and hyperfractionated irradiation in Lewis lung carcinoma. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 11: 1171-1179, 1985.

Beck-Bornholdt HP, Maurer T, Becker S, Omniczynski M, Vogler H, Würschmidt F: radiotherapy of the rhabdomyosarcoma R1H of the rat: hyperfractionation with 126 fractions applied within 6 weeks. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 13: 701-705, 1989

- Beck-Bornholdt HP: Was ist Repopulierung und wie kann man sie messen? In Beck-Bornholdt HP, Baumann M (Hrsg.) Experimentelle Strahlentherapie und klinische Strahlenbiologie 1. Hamburg, 1992.
- Bentzen SM, Overgaard J, Thames HD: Clinical radiobiology of malignant melanoma. *Radiother. and Oncol.* 16: 169-182, 1989
- Bentzen SM: Quantitative clinical radiobiology. *Acta Oncol.* 32: 259-275, 1993.
- Cohen L: Clinical Radiation Dosage, PT II, *Brit. J. Radiol.* 22: 706-713, 1949.
- Coutard H: Roentgentherapy of epitheliomas of the tonsillar region, hypopharynx and larynx from 1920-1926. *Am. J. Roentgenol.* 28: 313-331, 1932.
- DeVita VT: Principles of chemotherapy. In DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (Hrsg.) *Cancer*, 5th Edition, pp. 333-348 J.B. Lippincott, Philadelphia, 1997.
- Dikomey E: The influence of the size of dose on the repair kinetics of X-ray induced DNA strand breaks studied in CHO cells. In Beck-Bornholdt HP (Hrsg.) *Current topics in clinical radiobiology of tumors*, pp. 67-73. Springer, Berlin, 1993.
- Dörr W, Brankovic K, Hartmann B: Der Einfluß strahleninduzierter Repopulierungsprozesse auf die Erholung subletaler Strahlenschäden. In Beck-Bornholdt HP, Baumann M (Hrsg.) *Experimentelle Strahlentherapie und klinische Strahlenbiologie Band 7*, Hamburg, 69-75, 1998.
- Elkind MM, Sutton H: X-ray damage and recovery in mammalian cells in culture. *Nature* 184: 1293-1295, 1959.
- Ellis F: Dose, time and fractionation: a clinical hypothesis. *Clin. Radiol.* 20: 1-7, 1969.
- Fiodorra J, Linden WA: radiosensitivity of mouse L cells during the cell cycle. *Rad. and Environm. Biophys.* 14: 285-294, 1977.
- Flanagan SP: "Nude", a hairless gene with pleiotropic effects in the mouse. *Genet. Res.* 8: 295-309, 1966.
- Fletcher GH: Hypofractionation: lessons from complications. *Radiother. Oncol.* 20: 10-15, 1991.
- Fowler JF, Lindstrom M: Loss of local control with prolongation in radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 23: 457-467, 1992.

Gonzales D, Haveman J: Effects of irradiation by single or multiple fractions per day on a transplantable murine mammary carcinoma.
Br. J. Radiol. 55: 916-921, 1982.

Grau C, Overgaard J: The influence of radiation dose on the magnitude and kinetics of reoxygenation in a C3H mammary carcinoma.
Radiat. Res. 122: 309-315, 1990.

Gray LH, Conger AD, Ebert M, Hornsey S, Scott OCA: The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy.
Br. J. Radiol. 26: 638-648, 1953.

Gray LH, Steadman JM: Determination of the oxyhaemoglobin dissociation curves for mouse and rat blood. J. Physiol. 175: 161-171, 1964.

Guttenberger R, Kummermehr J, Chmelevsky D: Kinetics of recovery from sublethal radiation damage in four murine tumore.
Radiother. Oncol. 18: 79-88, 1990.

Hall EJ (Hrsg): Radiobiology for the radiologist, 4th Edition J. B. Lippincott, Philadelphia, 1994.

Hellman S: Principles of radiation therapy. In DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (Hrsg.) Cancer, 5th Edition, pp. 307-332. J.B. Lippincott, Philadelphia, 1997.

Hermens AF, Barendsen GW: Changes of cell proliferation characteristics in rat rhabdomyosarcoma before and after x-irradiation.
Eur. J. Cancer 5: 173-189, 1969.

Hermann T, Baumann M : Klinische Strahlenbiologie -kurz und bündig-, 3. Auflage, Gustav Fischer, Jena-Stuttgart-Lübeck-Ulm, 1997

Holthusen H: Erfahrungen über die Verträglichkeitsgrenze für Röntgenstrahlen und deren Nutzenwendung. Strahlentherapie 57: 254-269, 1936.

Horiot JC, Bontemps P, Van den Bogaert W, Le Fur R, van den Weijngaert D, Bolla M, Bernier J, Lusinchi A, Stuschke M, Lopez-Torecilla J, Begg AC, Pierat M, Collette L : Accelerated fractionation (AF) compared to conventional fractionation (CF) improves loco-regional control in the radiotherapy of advanced head and neck cancers: results of the EORTC 22851 randomized trial. Radiother Oncol 44 (2) : 111-121, 1997.

- Horsman MR, Overgaard J: The oxygen effect. In Steel GG (Hrsg.) Basic clinical radiobiology, pp. 81-88. Edward Arnold, London, 1993.
- Houghton JA, Houghton PJ: The suitability and use of human tumor xenografts. In Kallman RF (Hrsg.) Rodent tumor models in experimental cancer therapy, pp. 199-204. Pergamon Press, New York, 1987.
- Kallman RF: The phenomenon of reoxygenation and its implications for fractionated radiotherapy. *Radiology* 105: 135-142, 1972.
- Kellerer AM, Rossi HH: The theory of dual radiation action. *Curr. Top. Radiat. Res.* 8: 85-158, 1972.
- Kleineidam M, Pieconka A, Beck-Bornholdt HP: Radiotherapy of the rhabdomyosarcoma R1H of the rat: influence of the time interval between two daily fractions during hyperfraktionated radiotherapy. *Radiother. Oncol.* 30: 128-132, 1994.
- Leibel SA, Fuks Z: The impact of local tumor control on the outcome in human cancer. In Beck-Bornholdt HP (Hrsg.) Current topics in clinical radiobiology of tumors, 114-127. Springer, Berlin, 1993.
- Liertz C: Einfluß der Gesamtbehandlungszeit einer fraktionierten Strahlentherapie auf die lokale Kontrolle menschlicher FaDu-Plattenepithelkarzinome auf Nacktmäusen. Dissertationsschrift, Universität Hamburg, 1995.
- Lindenberger J, Hermeking H, Kummermehr J, Denekamp J: Response of human tumor xenografts to fractionated X-irradiation. *Radiotherapy and Oncology* 6: 15-27, 1986.
- Liversage WE: A critical look at the ret. *Br. J. Radiol.* 44: 91-100, 1971.
- Maciejewski B, Maciejewski S: Dose fractionation and tumor repopulation in radiotherapy for bladder cancer. *Radiother. Oncol.* 21: 163-170, 1991.
- Mc Nally NJ und de Ronde J: The effect of repeated small doses of radiation on recovery from sub-lethal damage by Chinese hamster cells irradiated in the plateau phase of growth. *Int. J. Radiat. Biol.* 29: 221-234, 1976.
- Melenkeit A: Vergleich des Effektes einer konventionellen Fraktionierung mit einer hyperfraktionierten Strahlentherapie auf die lokale Kontrolle menschlicher FaDu-Plattenepithelkarzinome auf Nacktmäusen, Dissertation, Universität Hamburg, 1997.

Müller-Klieser W, Vaupel P: Spontaneous variations of blood supply and tissue temperature in peripheral s.c. tumors during anaesthesia. In Kallman RF (Hrsg.) Rodent tumor models in experimental cancer therapy, pp. 43-46. Pergamon Press, New York, 1987.

Orton CG, Ellis F: A simplification in the use of the NSD concept in practical radiotherapy. Br. J. Radiol. 46: 529-537, 1973.

Overgaard J, Sand Hansen H, Overgaard M, et al. : Conventional radiotherapy as primary treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck. A randomized multicenter study of 5 versus 6 fractions per week – report from the DAHANCA 7 trial. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 39 Suppl. 1 : 188, 1997.

Palcic B, Broising JW, Skarsgard LD: Survival measurements at low doses: oxygen enhancement ratio. Br. J. Cancer 46: 980-984, 1982.

Petersen C, Baumann M, Dubben H-H, Arps H, Melenkeit A, Helfrich J: Linear-quadratic analysis of tumor response to fractionated radiotherapy: a study on human squamous cell carcinoma xenografts. Int. J. Radiat. Biol. 73: 197-205, 1998.

Reguad C, Nogier T: Sterilization rontgienne totale et definitive, sans radiodermite, des testicules du Berlier adulte: condition de sa realisation. C.R. Soc. Biol. 70: 202-203, 1911.

Rofstad EK: Human tumor xenografts in radiotherapeutic research. Radiother. Oncol. 3: 35-46, 1985

Rofstad EK: Lokal tumor control following single dose irradiation of human melanoma xenografts: relationship to cellular radiosensitivity and influence of an immune response by the athymic mouse. Cancer Res. 49: 3163-3167, 1989.

Rofstad EK: Fractionation sensitivity (α/β - ratio) of human melanoma xenografts. Radiotherapy and Oncology 33: 133-138, 1994.

Rosenberg SA: Principles of surgical oncology. In DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (Hrsg.) Cancer, 5th Edition, pp. 295-306. J.B. Lippincott, Philadelphia, 1997.

Saunders MI, Dische S: Radiotherapy employing three fractions in each day over a continuous period of 12 days. Br. J. Radiol. 59: 523-525, 1986.

Saunders MI, Dische S, Grosch EJ, Fermont DC, Ashford RFU, Maher EJ, Makepeace AR: Experience with CHART. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 21: 871-878, 1991.

Saunders M, Dische S, Barrett A, Harvey A, Griffiths G, Palmer M: Continuous, hyperfractionated, accelerated radiotherapy (CHART) versus conventional radiotherapy in non-small cell lung cancer: mature data from the randomised multicentre trial. CHART Steering committee. *Radiother. Oncol.* 52(2) : 137-148, 1999

Schwarz G: Merkwürdige Schwankungen der Röntgenempfindlichkeit bei einem und demselben Patienten. *Wien . Med. Wschr.* 52: 2597-2598, 1914.

Sinclair WK, Morton RA: X-ray sensitivity during the cell generation cycle of cultured Chinese hamster cells. *Radiat. Res.* 29: 450-474, 1966.

Singh K: Two regimes with the same TDF but differing morbidity used in the treatment of stage III carcinoma of the cervix. *Br. J. Radiol.* 51: 357-362, 1978.

Skladowski K, Maciejewski B, Przeorek W, et al. : Is 7 fractions in 7 days better than conventional 5 fraction a week irradiation of head and neck cancer? *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 52: 137-148, 1999.

Slawson RG, Salazaar OM, Poussin-Rosillo H, Amin PP, Strohl R, Sewchand W: Once a week vs. conventional daily radiation treatment for lung cancer: final report. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 15: 61-68, 1988

Slotmann BJ, Njo KH, de Jong A, Meijer OWM, Karim ABMF: Hypofractionated radiation therapy in unresectable stage III non-small cell lung cancer. *Cancer* 15: 1885-1893, 1993.

Steel GG: Growth kinetics of tumours. Clarendon Press, Oxford, 1977.

Steel GG, Peckham MJ: Human tumor xenografts: a critical appraisal. *Br. J. Cancer* 41 (Suppl. IV): 133-141, 1980.

Steel GG: How well do xenografts maintain the therapeutic response characteristics of the source tumor in the donor patient. In Kallman RF (Hrsg.) *Rodent tumor models in experimental cancer therapy*, pp. 205-208. Pergamon Press, New York, 1987.

Steel GG: Cellular sensitivity to low dose-rate irradiation focusses the problem of tumour resistance. *Radiother. Oncol.* 20: 71-83, 1991.

Steel GG : Clonogenic cells and the concept of cell survival. In Steel GG (Hrsg.) Basic clinical radiobiology, pp. 28 - 39. Edward Arnold, London, 1993.

Stephens TC, Currie GA, Peacock JH: Repopulation of gamma-irradiated Lewis lung carcinoma by malignant cells and host macrophage progenitors.

Br. J. Cancer: 573-582, 1978.

Strandquist, M: Studien über die kumulative Wirkung der Röntgenstrahlen bei Fraktionierung. Acta Radiol. 55 (Suppl.): 1-300, 1944.

Stuschke M, Budach V, Budach V, Feldmann HJ, Sack H: Radioresponsiveness, sublethal damage repair and stem cell rate in spheroids from three human tumor lines: comparison with xenograft data.

Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 24: 119-126, 1992.

Stuschke M: Kann durch Hyperfraktionierung das therapeutische Verhältnis der definitiven Strahlentherapie verbessert werden?-Ja! In Beck-Bornholdt HP, Baumann M (Hrsg.) Experimentelle Strahlentherapie und klinische Strahlenbiologie 5, Hamburg: 16, 1996.

Suit HD: Potential for improving survival rates for the cancer patient by increasing the efficacy of treatment of the primary lesion.

Cancer 50: 1227-1234, 1982.

Suit HD, Sedlacek RS, Silver G, Hsieh CC, Epp ER, Ngo FQH, Roberts WK, Verhey L: Therapeutic gain factors for fractionated radiation treatment of spontaneous murine tumors using fast neutrons, photons plus O₂ 1 or 3 ATA, or photons plus misonidazol. Radiat. Res. 116: 482-502, 1988.

Suit HD : The scope of the problem of primary tumor control.

Cancer 61: 2141-2147, 1988.

Suit HD, Zietman AL, Miralbell R, Sedlacek RS: Human tumor xenografts as models for study of the Radiation response of human tumors. In Paliwal BR, Fowler JF, Herbert DE, Kinsella TJ, Orton CG (Hrsg.) Prediction of response in radiation therapy: the physical, biological and analytical basis. American Institute of Physics, New York, 1989.

Suit HD, Allam A, Allalunis-Turner J, Brock W, Girinsky T, Hill S, Hunter N, Milas L, Paercey R, Peters L, Welch D, West C, Efird J: Is tumor cell irradiation resistance correlated with metastatic ability? Cancer Res. 54: 1736-1741, 1994.

Thames HD, Gardina DJ, Milas L: on the α/β ratio and OER for clonogenic tumor cells. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 11: 1572-1573, 1985.

Thames HD, Suit HD: Tumorradiosensitivity versus fractionation sensitivity. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 18, 365-373, 1986.

Thames HD, Hendry JH: Fractionation in radiotherapy. Taylor and Francis, London, 1987.

Thames HD, Bentzen SM, Turesson I, Overgaard M, van den Bogaert W: Time-dose factors in radiotherapy: A review of the human data. *Radiotherapy and Oncology.* 19(3): 219-235, 1990.

Trott KR, Kummermehr J: What is known about tumour proliferation rates to choose between accelerated fractionation or hyperfractionation. *Radiother. Oncol.* 3: 115-125, 1993.

Trott KR: Tumor stem cells: the biological concept and its application to cancer treatment. *Radiother. Oncol.* 30: 1-5, 1994.

Turrisi AT, Kim K, Blum R, Sause WT, Livingston RB, Komaki R, Wagner H, Aisner S, Johnson DH.: Twice-daily compared with once-daily thoracic radiotherapy in limited small-cell lung cancer treated concurrently with cisplatin and etoposide. *N Engl J Med* 340(4) : 265-71, 1999,

Van Putten LM, Kallman RF: Oxygenation status of a transplantable tumor during fractionated radiation therapy. *J. Natl. Cancer Inst.* 40: 441-451, 1968.

Walker AM, Suit HD: Assessment of local tumor control using censored tumor response data. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 9: 383-386, 1983.

Williams MV, Denekamp J, Fowler JF: A review of α/β ratios for experimental tumors: implications for clinical studies of altered fractionation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 11: 87-96, 1985

Withers HR: The four R's of radiotherapy. In Lett JT, Adler H (Hrsg.) *Advances in radiation biology* 5, pp. 241-247. Academic Press, New York, 1975.

Withers HR: Biologic basis for altered fractionation schedules. *Cancer* 55: 2086-2095, 1985.

Withers HR, Taylor JMG, Marciejewsky B: The hazard of accelerated tumor clonogen repopulation during radiotherapy. *Acta Oncol.* 27: 131-146, 1988.

Würschmidt F, Vogler H, Beck-Bornholdt HP: Radiotherapy of the rhabdomyosarcoma R1H of the rat: the influence of the number of fractions on tumor and skin response. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 14: 497-502, 1988.

Würschmidt F, Becker S, Maurer T, Omniczynski, Schelp R, Vogler H, Beck-Bornholdt HP: Radiotherapy of the rhabdomyosarcoma R1H of the rat: recovery from radiation injury in tumor and skin. *Radiother. Oncol.* 23: 105-110, 1992.

Zanelli GD, Fowler JF: Anaesthetics in the study of microcirculation of tumors: pitfalls and uses. *Bibl. Anat.* 15: 249-254, 1977.

Zeman EM, Bedford JS: Loss of repair capacity in density-inhibited cultures of C3H 10T cells during multifraction irradiation. *Radiat. Res.* 104: 71-77 1985.

Zietman AL: The transplantability and radiation response of human and rodent tumors growth in nude mice. Thesis, University of London, 1988.

Zietmann AL, Suit HD, Tomkinson KN, Thames HD, Sedlacek RS: The response of two human tumor xenografts to fractionated irradiation. The derivation of α/β ratios from growth delay, tumor control, and *in vitro* cell survival assays. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 18, 569-575, 1990.

7. DANKSAGUNG

Ich danke

Herrn Prof. Dr. med. M. Baumann für die ständige und freundliche Betreuung dieser Arbeit, die im Rahmen seines DFG-Projektes Ba 1433 durchgeführt wurde.

Bedanken möchte ich mich weiterhin bei allen Mitgliedern seiner Arbeitsgruppe „Experimentelle Strahlentherapie“ für die gute Zusammenarbeit, namentlich Frau Dr. med. A. Melenkeit, Frau Dr. med. C. Liertz-Petersen, Frau K. Horn und Frau S. Hey, sowie Frau I. Schraut für die der Arbeitsgruppe geleistete medizinisch-technische Assistenz.

Herrn Dr. vet. J. Dimigen und seinen Mitarbeitern (Versuchstierhaltung UKE) für die Zucht und Pflege der Mäuse.

8. LEBENSLAUF

Geburtsdatum:	18 Juni 1966
Geburtsort:	Hamburg
1972:	Einschulung in die Grundschule
1986:	Erlangung der allgemeinen Hochschulreife an der Heinrich-Hertz-Schule in Hamburg
1988:	Aufnahme des Studiums der Medizin in Hamburg
1990	Ärztliche Vorprüfung
1991	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1994	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1995	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1996-1998	Arzt im Praktikum in den Abteilungen für Innere Medizin im District General Hospital, Peterborough und Pilgrim Hospital, Boston, England
1998-1999	Marktforschungsassistent bei der I+G Suisse Health Research International, Basel, Schweiz

Seit Dezember 1999 Projektberater bei c.a.r.u.s. Hamburgische Medizin Systeme GmbH, in Hamburg.

ERKLÄRUNG

Ich versichere ausdrücklich, daß ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe, und daß ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Jan Helfrich