

Aus dem Institut für Biophysik und Strahlenbiologie  
der Universität Hamburg  
Direktor Prof. Dr. Horst Jung

**Postoperative Strahlentherapie:  
Experimentelle Untersuchungen am Rhabdomyosarkom R1H der Ratte**

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin  
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg

vorgelegt von

Philipp R. Maurer  
aus  
Wentorf bei Hamburg

Hamburg, 2001

Angenommen von dem Fachbereich Medizin  
der Universität Hamburg am: 15. Januar 2002

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin  
der Universität Hamburg

Dekan: Prof. Dr. C. Wagener

Referent: Prof. Dr. H.-P. Beck-Bornholdt

Korreferent: Prof. Dr. H. Jung

# Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung .....	1
2. Material und Methoden .....	17
2.1 Tumor-Wirt-System.....	17
2.2 Tumortransplantation .....	18
2.3 Operation .....	19
2.4 Bestrahlung.....	22
2.5 Versuchsbeginn .....	24
2.6 Studienaufbau und Gruppenbelegung .....	24
2.7 Endpunkte.....	27
2.7.1 Lokale Kontrolle.....	27
2.7.2 Wachstumsverzögerung.....	27
2.8 Wachstumskurven .....	28
2.8.1 Volumenbestimmung.....	28
2.8.2. Erstellung der Wachstumskurven.....	29
2.8.3 Aus der Wachstumskurve abgeleitete Parameter .....	29
2.8.3.1 Wachstumsverzögerung und Nettowachstumsverzögerung.....	29
2.8.3.2 Tumor-Bett-Effekt.....	31
2.9 Mathematische Methoden .....	32
2.9.1 Zensieren .....	32
2.9.2 Maximum-Likelihood-Methode .....	33
2.10 Tumorkontrolldosis 50%.....	35
2.11 Nachbeobachtung der Tumoren .....	37
3. Ergebnisse.....	39
3.1 Auswertung der Wachstumskurven.....	39
3.2 Lokale Tumorkontrolle.....	44
4. Diskussion .....	49
4.1 Fragestellung .....	49
4.2 Methodische Diskussion.....	49
4.3 Diskussion der Endpunkte.....	51
4.4 Diskussion der Ergebnisse.....	52
4.4.1 Wachstumskurven .....	52

4.4.2 Aus den Wachstumskurven abgeleitete Parameter.....	53
4.4.2.1 Wachstumsverzögerung.....	53
4.4.2.2 Tumor-Bett-Effekt.....	56
4.5 Diskussion der Heilungsergebnisse.....	56
4.5.1 Vergleich der postoperativen und alleinigen Bestrahlung.....	56
4.5.2 Einfluss der chirurgischen Tumorentfernung.....	63
4.6 Zusammenfassender Vergleich der alleinigen und postoperativen Bestrahlung.....	66
4.7 Diskussion der experimentellen und klinischen Literatur.....	69
5. Zusammenfassung.....	71
6. Ausblick.....	73
7. Literatur.....	74
8. Anhang.....	86

## 1. Einleitung

Der Behandlung von bösartigen Tumorerkrankungen kommt in der Medizin eine große Bedeutung zu. Bösartige Tumore sind in Deutschland nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache (Schmoll, 1996; Behörde für Arbeit, Gesundheit und Soziales der Hansestadt Hamburg, 1999): Von insgesamt 19228 Todesfällen im Jahr 1998 in Hamburg sind 4984 Fälle auf Krebs zurückzuführen. Bundesweit verstarben im selben Zeitraum 212748 Menschen an Krebs (Statistisches Landesamt Hamburg, 2000). Dieses entspricht etwa einem Viertel aller Todesfälle. Jährlich werden etwa 340000 bösartige Neuerkrankungen in Deutschland registriert (Robert-Koch-Institut, 2000).

Patienten mit einem lokal begrenzten Tumor können in 56% der Fälle geheilt werden. Die übrigen 44% entwickeln jedoch ein Tumorrezidiv (Perez und Brady, 1998). Etwa jeder dritte Tumorpatient verstirbt an oder mit einem lokal fortschreitenden Malignom (Suit, 1982, 1988; Tubiana, 1992; Leibel und Fuks, 1993).

Die Behandlung bösartiger Tumore stützt sich auf die drei Säulen Chirurgie, Strahlentherapie und Chemotherapie (DeVita, 1993; Hellmann, 1993; Rosenberg, 1993). Sie werden bei der Therapie entweder alleine oder in Kombination angewandt. Generell muss dabei der kurative vom palliativen Behandlungsansatz unterschieden werden:

Die kurative Behandlung macht es sich zur Aufgabe, die lokale und regionale Tumorkontrolle bei gleichzeitiger Vermeidung schwerer Nebenwirkungen zu erzielen und somit alle Tumorzellen, die ein Wiederaufwachsen des Tumors bewirken können, zu inaktivieren. Der Patient soll am Ende der Therapie von seiner Erkrankung geheilt sein.

Eine palliative Therapie hingegen wird in solchen Fällen angewandt, bei denen aufgrund der Ausdehnung und/oder Entität wenig Aussicht auf Tumorheilung besteht. Sie kann nur den Fortgang der Erkrankung verlangsamen oder diesen für einen gewissen Zeitraum unterbrechen und damit die Lebensqualität verbessern bzw. das Leiden des Patienten minimieren.

Die wichtigste Kombinationstherapie in der Behandlung von Tumoren ist die Kombination von Tumoroperation und Bestrahlung (Algan, 1996; Greven, 1997; Morris et al., 1997). Die postoperative Strahlentherapie gehört zur Standardbehandlung bei einer Vielzahl von

Tumorentitäten, z.B. bei Karzinomen im Kopf-Hals-Bereich, Mammakarzinomen, Bronchialkarzinomen, gynäkologischen Malignomen, Rektumkarzinomen und Weichteilsarkomen (Fietkau, 2000).

Generell wird die onkologische Chirurgie von der chirurgischen Onkologie unterschieden (Schmoll, 1996):

Unter der onkologischen Chirurgie versteht man den Teil der Chirurgie, der sich mit der Indikation, Verfahrenswahl und Operationstechnik von Tumoren befaßt. Hingegen umfaßt die chirurgische Onkologie den Teil der Onkologie, der sich mit der Indikation und Art multimodaler Therapieprinzipien am chirurgisch behandelten Patienten befaßt (prä-, intra- oder postoperative Therapien).

Die onkologische bzw. alleinige chirurgische Entfernung von Tumorgewebe kann nur dann zu einem Erfolg führen, wenn eine sogenannte kurative Resektion durchgeführt werden kann, d.h. nach der Operation darf kein Tumorrest mehr verbleiben, der zu einem Wiederaufwachsen des Tumors führen könnte. Dies bezieht sich nicht nur auf den Primärtumor, sondern auch auf die regionalen Lymphabflußgebiete.

Die alleinige einfache Chirurgie wird vor allem bei epithelialen Tumoren eingesetzt. Allein führt sie bei den meisten Tumorentitäten zu keinen befriedigenden Ergebnissen in der Tumorkontrolle, da oftmals die Gefahr besteht, dass bei der Operation mikroskopische Ausläufer des Tumors übersehen und somit nicht entfernt werden. Dadurch kann es zum Verbleib teilungsfähiger, klonogener Tumorzellen in der Peripherie des Operationsgebietes kommen.

In klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass durch eine Ausdehnung des Resektionsgebietes von einfacher Tumorentfernung zur radikalen Chirurgie bzw. Amputation die Misserfolgsquote stark gesenkt werden konnte (Suit et al., 1985 a). Ein radikaler chirurgischer Eingriff hat jedoch auch einen großen Verlust der Funktion, Kosmetik und Anatomie für den Patienten zur Folge. Um mit der konservativen Chirurgie vertretbare Erfolge in der Tumorkontrolle zu erlangen, ist es notwendig, diese mit adjuvanten Therapieformen zu kombinieren. In einer Untersuchung von Suit et al. aus dem Jahre 1985 wurden Daten von Patienten, die in der Zeit von 1971 bis 1982 am Massachusetts General Hospital mit einer kombinierten Therapie aus Bestrahlung und Operation an Weichteilsarkomen behandelt wurden, miteinander verglichen. Die Tumoren

waren an den Extremitäten, am Torso, am Kopf und am Nacken lokalisiert. Durch Anwendung radikaler Chirurgie bzw. Amputation sollte eine lokale Kontrolle von 95% erreicht werden. Dagegen sollte die Tumorbehandlung mit einer Kombination aus einer weniger radikalen Chirurgie und Bestrahlung eine lokale Kontrolle von ca. 90% erzielen. Dieser geringe Unterschied in der lokalen Tumorkontrolle von ungefähr 5% rechtfertigt die invasiven Maßnahmen der radikalen Chirurgie gegenüber einer kombinierten chirurgisch-radiologischen Behandlung nach Meinung der Autoren nicht (Suit et al., 1985 a).

Auch Lindberg et al. kamen 1981 zu einem vergleichbaren Ergebnis: Sie untersuchten die Daten von 300 Weichteilsarkom-Patienten, die zwischen 1963 und 1977 postoperativ bestrahlt wurden. Während nach chirurgischer Tumorentfernung 20% der Tumoren rezidierten, betrug die Rezidivhäufigkeit nach chirurgisch-radiologischer Therapie 22%. Durch Anwendung der chirurgisch-radiologischen Therapie konnte bei vergleichbarem Rezidivrisiko zur alleinigen radikalen Chirurgie die Funktion und Anatomie von Körpergliedmaßen erhalten werden.

Die Kombination von Chirurgie und Strahlentherapie beinhaltet die Möglichkeit, beide Therapieformen sinnvoll zu ergänzen: Bei den chirurgischen Eingriffen lässt sich der makroskopische Anteil des Primärtumors gut entfernen. Hingegen können in der Peripherie und in den Lymphabflusswegen lokalisierte mikroskopische Tumorzellen übersehen werden, die zu Rezidiven führen können. Durch die Strahlenbehandlung können diese inaktiviert werden. Eine alleinige Strahlentherapie birgt die Gefahr der Rezidivbildung meistens am Ort der größten Zelldichte, also im Bereich des makroskopischen Primärtumors. Durch eine Kombination der Strahlentherapie und der Operation können die Schwachstellen jeder einzelnen Methode kompensiert und die Rezidivwahrscheinlichkeit gesenkt werden (vergl. Herrmann und Baumann, 1997).

Darüber hinaus bietet die mit Chirurgie kombinierte Strahlentherapie die Möglichkeit, unter Erhalt der körperlichen Integrität und gleichzeitiger Verringerung der benötigten Strahlendosis die lokale Tumorkontrolle zu verbessern.

Man unterscheidet bei der Kombination von Strahlentherapie und Chirurgie zwischen prä-, intra- oder postoperativer Strahlentherapie.

Bei der präoperativen Strahlentherapie wird der Tumor vor der chirurgischen Entfernung bestrahlt. Die Wahrscheinlichkeit einer Rezidivbildung durch Tumorzellen, die durch die Operation in das umliegende Gewebe verstreut werden oder durch zu enge Operationsgrenzen in der Peripherie verbleiben, wird hierdurch minimiert. In klinischen und experimentellen Studien konnte nachgewiesen werden, dass die Applikation einer präoperativen Strahlenbehandlung im Vergleich zur alleinigen chirurgischen Tumorentfernung zu einer Verringerung der Rezidivwahrscheinlichkeit führt (Suit et al., 1985 a; Perez et al., 1970).

Die präoperative Strahlentherapie hat im Vergleich zur postoperativen Therapie den Vorteil, dass der Strahlentherapeut und der Chirurg als Team das Therapiekonzept zusammen erarbeiten und so die interdisziplinäre Zusammenarbeit gefördert wird. Der Patient wird somit nicht von einer zur anderen Abteilung „weitergereicht“.

Ein Nachteil der präoperativen Bestrahlung hingegen ist, dass es durch die Abtötung der Tumorzellen zu einer fibrinösen Umwandlung des Tumorgewebes kommen kann. Der Chirurg kann in diesem Fall während der Operation schlechter die Grenzen der Tumorausdehnung erkennen.

Die intraoperative Bestrahlung wird während der Operation gegeben. Die Dosis kann exakt in das chirurgisch dargestellte Tumorbett appliziert werden. Dies weist den Vorteil auf, dass die über dem Tumor liegenden Gewebsschichten, die für die Entfernung des Tumors aus dem Operationsfeld genommen werden, nicht mitbestrahlt und Tumorzellen, die während der Operation in die Peripherie verstreut wurden, inaktiviert werden. Die intraoperative Bestrahlung kann jedoch nur einmal angewandt werden, da die Operationswunde nach dem chirurgischen Eingriff wieder verschlossen wird. Da der technische Aufwand dieser Bestrahlungsform sehr groß ist, wird sie nicht routinemäßig eingesetzt.

Bei der postoperativen Therapie erfolgt die Bestrahlung nach der chirurgischen Entfernung des Tumorgewebes. Durch diese Reihenfolge steht dem Pathologen das gesamte entfernte Tumorgewebe zur Bestimmung des histologischen Grades und Typs zur Verfügung (Suit et al., 1985 a).

Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass der Chirurg im Gegensatz zur präoperativen Strahlentherapie die Grenzen des Tumorgewebes makroskopisch besser erkennen und palpieren kann, was die chirurgische Entfernung erleichtert.

Nicht zuletzt ist eine Entfernung des Tumorgewebes vor der zeitintensiven Strahlentherapie auch ein wichtiges psychologisches Moment für den Patienten.

Nach der Operation bedarf es einer Erholungszeit für den Patienten, bevor mit der Bestrahlung begonnen werden kann. Generell beträgt die Pause zwischen Operation und Bestrahlungsbeginn 3 bis 4 Wochen (Lindberg et al., 1981), aber mindestens so lange, bis die Operationswunde abgeheilt ist. Bei der Behandlung von Kopf-Hals-Tumoren beträgt das „altbewährte“ Zeitintervall sechs Wochen (Fietkau, 2000). Wenn nach einer Operation im Tumorbett klonogene Tumorzellen zurückbleiben, können diese sich im Zeitintervall von der Operation bis zum Bestrahlungsbeginn vermehren. Je länger dieser Zeitraum ist, desto mehr Zellen bilden sich neu, die durch die Bestrahlung abgetötet werden müssen, infolgedessen nimmt die lokale Kontrollwahrscheinlichkeit theoretisch ab (vergl. Suit et al., 1985 a, b; Fietkau, 2000). Aus diesen theoretischen Überlegungen muss gefolgert werden, dass der Zeitabstand zwischen Operation und Bestrahlung eine wesentliche Rolle für die lokale Tumorkontrolle spielt. In einer Literaturzusammenstellung konnte Fietkau (2000) mit Hilfe vorhandener Daten zum Einfluß des Intervalls zwischen Operation und Bestrahlung bei Tumoren der Kopf-Hals-Region, Mammakarzinomen und Bronchialkarzinomen keinen eindeutigen Zusammenhang erkennen. Dieser Widerspruch zwischen theoretischen Überlegungen und in klinischen Studien dargestellten Ergebnissen bleibt ungeklärt. In der täglichen klinischen Praxis sollte aber davon ausgegangen werden, dass das Intervall zwischen Operation und Bestrahlung ein Parameter ist, der die lokale Rezidivrate beeinflussen kann (Fietkau, 2000).

Eine Reihe von Untersuchungen beschäftigen sich mit der Frage, ob prinzipielle Unterschiede in der Effektivität der postoperativen und der präoperativen Bestrahlung bestehen.

Myerson et al. publizierten 1995 die Ergebnisse von 307 Rektumkarzinom-Patienten, die in der Zeit von 1975 bis 1990 mit kombinierter Strahlentherapie behandelt wurden. Bei 251 Patienten wurde eine präoperative und bei 56 eine postoperative Strahlentherapie angewandt. Nach postoperativer Strahlentherapie mit 40 bis 60 Gy Gesamtdosis konnten

73% der Tumoren lokal kontrolliert werden. Die präoperativ bestrahlten Patienten erhielten entweder eine Gesamtdosis von 20 Gy innerhalb einer Woche mit unmittelbar daran angeschlossener operativer Tumorentfernung, oder es wurden 40 bis 50 Gy Gesamtdosis über 5 Wochen appliziert und der Tumor nach sechs bis sieben Wochen entfernt. Es wurde dadurch eine lokale Kontrolle von 92% bzw. 86% erreicht. Insgesamt lag für die präoperative Strahlentherapie in Bezug auf die lokale Kontrolle ein besseres Ergebnis vor.

Van Houtte et al. (1985) berichten von 280 Patienten, die in der Zeit von 1963 bis 1977 wegen Karzinomen des Endometriums behandelt wurden. Bei 149 von ihnen wurde die alleinige, bei 65 die präoperative und bei 66 die postoperative Strahlentherapie angewandt. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass bei Patienten, bei denen eine Operation möglich ist, die 5-Jahres-Überlebensrate durch Anwendung einer chirurgisch-radiologischen Therapie deutlich zu verbessern ist, wobei die Anwendung der präoperativen Bestrahlung effektiver war als die postoperative. Es ergaben sich Überlebensraten von ca. 50% für die alleinige Bestrahlung, bzw. von 75% für die postoperative und 84% für die präoperativen Strahlentherapie.

Aus dem Vergleich dieser klinischen Studien deutet sich in Bezug auf die lokale Tumorkontrolle ein Vorteil der präoperativen Behandlungsmodalität an.

Das Ziel einer jeden strahlentherapeutischen Behandlung ist die möglichst vollständige Inaktivierung aller Tumorzellen unter gleichzeitiger Vermeidung nicht tolerabler Schäden des umgebenden Normalgewebes. Letzteres spielt bei Tumorbestrahlungen insofern eine wichtige Rolle, da das den Tumor umgebende Gewebe oft dosislimitierend wirkt. Klinische Erfahrungen zeigten schon sehr früh, dass sich die Aufteilung der Gesamtdosis auf mehrere kleine Fraktionen positiv auf das Verhältnis zwischen Normalgewebs- und Tumorzellschaden auswirkt (Schwarz, 1914).

Die Strahlenwirkung auf Tumor- und Normalgewebe wird von verschiedenen Mechanismen und Prozessen bestimmt, die Withers erstmals in den 70er Jahren als die „4Rs“ der Strahlenbiologie zusammenfaßte (Withers, 1975 und 1985): Es werden die Recovery (Erholung) vom zellulären Strahlenschaden, die Reoxygenierung hypoxischer Zellen, die Repopulierung des Tumors durch überlebende Zellen und die Redistribution der Zellen im Zellzyklus unterschieden:

### 1. Recovery (Erholung)

Nicht alle Schäden, die in einer Zelle nach Bestrahlung vorliegen, bedingen notwendigerweise deren Tod. Vielmehr sind die Zellen in der Lage, den überwiegenden Teil der Strahlenschäden erfolgreich zu reparieren und sich vom Strahlenschaden zu erholen. Anhand strahlenbiologischer Ergebnisse nach Einzeit- und fraktionierter Bestrahlung lassen sich über die Natur dieser Schäden und ihrer jeweiligen Bedeutung am Strahleneffekt folgende Rückschlüsse ziehen:

Wird die Überlebensrate von Zellen nach Einzeitbestrahlung bestimmt und in halblogarithmischer Darstellung als Funktion der Gesamtdosis aufgetragen, so entsteht für die Quantifizierung von Strahlenschäden auf Zellen eine typische Schulterkurve. Ein Beispiel hierfür wird in Abbildung 1.1 (Kurve A) gezeigt. Diese Dosis-Effekt-Kurve kann durch folgende linear-quadratische Gleichung beschrieben werden (Kellerer und Rossi, 1972; Fertil et al., 1981):

$$SF = \exp(-\alpha D - \beta D^2) \quad \text{[Gleichung 1]}$$

Danach besteht der Gesamteffekt der Bestrahlung aus einer linearen Komponente mit dem Koeffizienten  $\alpha$  und einer quadratischen Komponente mit dem Koeffizienten  $\beta$ . Der linearen Komponente werden Ein-Treffer-Ereignisse zugeordnet: Die Wahrscheinlichkeit für einen solchen Schaden nimmt proportional mit der Dosis zu. Der quadratischen Komponente hingegen werden Schäden zugeordnet, die durch Wechselwirkungen zweier Einzelereignisse den Tod der Zelle bedingen: Die Wahrscheinlichkeit für ein solches Ereignis nimmt quadratisch mit der Dosis zu.

Appliziert man die Gesamtdosis in mehreren Fraktionen, dann überlebt ein größerer Anteil der bestrahlten Zellen als nach der Einzeitbestrahlung mit derselben Gesamtdosis (Abbildung 1.1: Kurve B). Als Erklärung für diesen Fraktionierungseffekt werden Reparaturprozesse angenommen, die einen Teil der Schäden beseitigen, bevor die zweite

Bestrahlung erfolgt. Dadurch verringert sich der Anteil an Schäden, die durch Zwei-Treffer-Ereignisse hervorgerufen werden (Elkind und Sutton, 1960; Alper, 1979).

Der Verlauf einer Dosis-Effekt-Kurve nach fraktionierter Bestrahlung wird von der Form der entsprechenden Dosis-Effekt-Kurve nach Einzeitbestrahlung bestimmt, da sich bei jeder Fraktion deren Schulter wiederholt, sofern ein für die Reparatur subletaler Schäden ausreichendes Zeitintervall zwischen den Bestrahlungen liegt. Als Maß für die Schulter dient das sogenannte  $\alpha/\beta$ -Verhältnis. Darunter wird die Dosis verstanden, bei der der Bestrahlungseffekt zu gleichen Teilen von der linearen ( $\alpha$ ) und der quadratischen ( $\beta$ ) Komponente bestimmt wird. Eine Dosis-Effekt-Kurve mit schwach ausgeprägter Schulter wird durch ein großes  $\alpha/\beta$ -Verhältnis charakterisiert, während ein kleines  $\alpha/\beta$ -Verhältnis darauf hinweist, dass die entsprechende Dosis-Effekt-Kurve stark gekrümmt ist.

Das  $\alpha/\beta$ -Verhältnis ist ein wichtiger strahlenbiologischer Parameter zur Beschreibung von Fraktionierungseffekten auf Gewebe. Die Kenntnis dieses Verhältnisses ermöglicht folgende Aussagen über den gesetzten Strahlenschaden: ein großes  $\alpha/\beta$ -Verhältnis bedeutet, dass der lineare Teil des Terms bis zu relativ hohen Dosen überwiegt und somit der Strahlenschaden in erster Linie durch Ein-Treffer-Ereignisse bedingt ist. Ein kleines  $\alpha/\beta$ -Verhältnis deutet darauf hin, dass der quadratische Term bei zunehmender Dosis schnell an Einfluß gewinnt und dass der Strahlenschaden stark von Zwei-Treffer-Ereignissen bestimmt wird. Je ausgeprägter die Schulter der Dosis-Effekt-Kurve ist, umso größer wird der Fraktionierungseffekt sein, da ausschließlich Zwei-Treffer-Ereignisse durch Reparatur zwischen den einzelnen Fraktionen reduziert werden.

Es sei noch erwähnt, dass das Reparaturvermögen einer Zelle durch physiologische Veränderungen beeinflusst wird, die zum Teil durch die Bestrahlung selbst ausgelöst werden. Hierzu gehören zum Beispiel Veränderungen der Sauerstoffversorgung und der Versorgung mit Nährstoffen (Spiro et al., 1985) sowie die Lage der Zelle im Zellzyklus (Terasima und Tolmach, 1963; Sinclair und Morton, 1966).

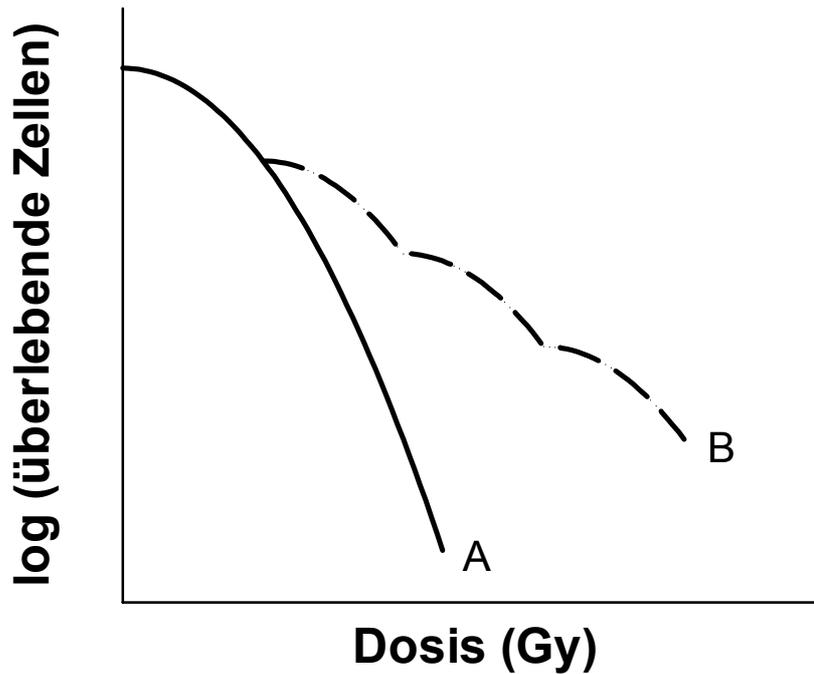


Abb. 1.1: Schematische Darstellung zur Strahlenwirkung einer Einzeit- (Kurve A) bzw. einer fraktionierten Bestrahlung (Kurve B) auf die Überlebensrate der bestrahlten Zellen. Die Reparatur subletaler Schäden bewirkt bei fraktionierter Bestrahlung im Vergleich zur Einzeitbestrahlung mit derselben Gesamtdosis eine höhere Überlebensrate.

## 2. Reoxygenierung

Eine Vielzahl von Untersuchungen haben gezeigt, dass Zellen in Anwesenheit von Sauerstoff deutlich strahlenempfindlicher als unter Ausschluß von Sauerstoff sind. Dieses als Sauerstoffeffekt bezeichnete Phänomen wurde erstmals von Schwarz (1909) beschrieben und lässt sich für die verschiedenen Strahlenarten in unterschiedlicher Ausprägung beobachten. Der Sauerstoffeffekt wird mit Hilfe des Sauerstoffverstärkungsfaktors (OER, engl.: oxygen enhancement ratio) quantifiziert. Dieser gibt das Verhältnis derjenigen Strahlendosen wieder, bei denen unter Ausschluß bzw. Anwesenheit von Sauerstoff der gleiche Effekt erzielt wird. Für verschiedenste Säugetierzellen wurden nach Röntgenbestrahlung *in vitro* (Trott, 1972) wie auch *in vivo* (Hornsey, 1970) Sauerstoffverstärkungsfaktoren zwischen 2 und 3 gemessen. Dies bedeutet, dass für die Inaktivierung von hypoxischen Zellen die doppelte bis dreifache Strahlendosis benötigt wird, als sie für euoxische Zellen erforderlich ist.

Eine unzureichende Versorgung der Tumorzellen mit Sauerstoff führt in Tumoren zur Entstehung hypoxischer Zellen. Bei einer Entfernung von über 100 bis 180  $\mu\text{m}$  vom nächsten Blutgefäß, entstehen hypoxische Zellen, da die Diffusionstiefe des Sauerstoffs im Gewebe überschritten wird. An dreidimensionalen Sphäroidmodellen lassen sich in vitro die Wachstumsbedingungen von Mikrometastasen gut simulieren (Hall, 1988). Die Sphäroide wachsen in vitro bis zu einem Durchmesser von 800  $\mu\text{m}$ . Da die Diffusionstiefe von Sauerstoff in Gewebe nur etwa 150  $\mu\text{m}$  beträgt, kommt es bei Sphäroiden mit einem Durchmesser von 300  $\mu\text{m}$  zur Entwicklung zentraler Nekrosen und zur Entstehung hypoxischer Zellen. In diesem Fall liegt eine diffusionsbedingte Hypoxie der Zellen vor, die von der sogenannten ischämischen Hypoxie unterschieden wird, bei der es durch kurzfristige Verschließung der Blutgefäße zur Entstehung einer zeitlich begrenzten Hypoxie kommt. Tumoren enthalten aufgrund ihrer im Mittel schlechten Vaskularisierung (Warren, 1979) eine mehr oder weniger große Anzahl hypoxischer Zellen (Kallman, 1972; Moulder und Rockwell, 1984), die zwar noch vital, aber aufgrund des Sauerstoffeffektes im Vergleich zu anderen Zellen besonders strahlenresistent sind (Thomlinson und Gray, 1955). Schon eine kleine Fraktion hypoxischer Zellen kann die Radiokurabilität eines Tumors entscheidend beeinflussen (Gray et al., 1953; Henk und Smith, 1977; Bush et al., 1978).

Eine direkte Messung des Anteils hypoxischer Zellen in Tumoren ist bisher nicht möglich. Die Angabe der hypoxischen Fraktion beruht daher immer auf indirekten Methoden, bei denen die Strahlenempfindlichkeit von Tumoren verglichen wurde, die unter artifiziell induzierten hypoxischen bzw. unter ambienten Bedingungen bestrahlt wurden. Mit Hilfe dieser Methodik wurde die Beobachtung gemacht, dass hypoxische Zellen, die eine Bestrahlung überleben, im Laufe der Zeit nach dieser Bestrahlung wieder mit Sauerstoff versorgt und dadurch entsprechend strahlensensibler werden. Dieser als Reoxygenierung bezeichnete Prozess stellt die Grundlage der in der klinischen Praxis angewandten Methode der fraktionierten Bestrahlung dar. Durch Applikation mehrerer kleiner Dosen findet schrittweise eine Reoxygenierung der hypoxischen Zellen statt. Somit ist eine Inaktivierung der sonst strahlenresistenten Tumorzellen möglich.

Die Kinetik des Reoxygenierungsprozesses verschiedener Tumoren kann sehr unterschiedlich sein. Während bei manchen Tumoren innerhalb von Stunden eine mehr

oder weniger vollständige Reoxygenierung stattfindet (Thomlinson, 1970; Dorie und Kallman, 1984), kann bei anderen Tumoren auch innerhalb von mehreren Tagen nach Bestrahlung nur ein minimaler Reoxygenierungseffekt nachgewiesen werden (van Putten, 1968). Als mögliche Mechanismen der Reoxygenierung werden von Kallman (1972) ein reduzierter Sauerstoffverbrauch der strahleninaktivierten Zellen, eine verbesserte Blutzirkulation infolge der Bestrahlung, Schrumpfung des Tumors durch Abbau toter Zellen und eine daran gekoppelte verbesserte Sauerstoffversorgung bisher hypoxischer Zellen und möglicherweise eine Migration hypoxischer Zellen in Richtung der Gefäße diskutiert. Reoxygenierung kann bei einer ischämischen Hypoxie sehr schnell erfolgen, wenn Gefäße oder Bereiche des Tumors, in denen der Blutfluß zunächst unterbrochen war, nach Bestrahlung wieder durchblutet werden (Reinhold, 1979; Kitakabu, 1991).

### *3. Repopulierung*

Unter Repopulierung versteht man im allgemeinen die Erneuerung eines Gewebes durch überlebende Zellen nach Bestrahlung. Der Bestrahlungseffekt auf den Tumor wird in besonderem Maße davon bestimmt, ob und mit welcher Geschwindigkeit überlebende Tumorzellen während und nach Bestrahlung proliferieren. Wird die fraktionierte Strahlenbehandlung abgeschlossen, bevor die Repopulierung überlebender Zellen einsetzt, ist ein Höchstmaß an Inaktivierung möglich und im günstigsten Fall werden alle Tumorzellen inaktiviert. Setzt die Repopulierung noch während der Strahlenbehandlung ein, bedeutet dies eine Verringerung des Bestrahlungseffektes, da zusätzliche Dosis zur Kompensation der Proliferation notwendig wird. Der Zeitpunkt des Einsetzens und die Geschwindigkeit der Repopulierung können somit den Erfolg einer fraktionierten Strahlenbehandlung maßgeblich beeinflussen. In diesem Zusammenhang wurde der Einfluss der Gesamtbehandlungszeit auf den therapeutischen Erfolg einer Bestrahlung für Experimentaltumoren (Hermens und Barendsen, 1969; Barendsen und Broerse, 1970; Fowler et al., 1975; Suit et al., 1977; Kummermehr und Trott, 1982; Beck-Bornholdt et al., 1991) wie auch für menschliche Tumoren (Spanos et al., 1976; Norin und Onynggo, 1977; Trott und Maciejewske, 1981; Withers et al., 1987) beschrieben.

Die Repopulierung wird im Laufe einer Strahlenbehandlung im Wesentlichen durch die normale Zellumsatzrate des Gewebes bestimmt. Andere Faktoren von Bedeutung sind

neben der Gesamtdosis die Dosis pro Fraktion, die Anzahl der Bestrahlungsfractionen und die Stoffwechselaktivität; dabei reagiert im allgemeinen Tumorgewebe komplexer und variabler als Normalgewebe (Steel, 1977).

#### *4. Redistribution*

Die Strahlenempfindlichkeit von Zellen hängt neben der Versorgung mit Sauerstoff auch davon ab, in welcher Phase des Zellzyklus die Zellen der Strahlung exponiert werden (Terasima und Tolmach, 1963; Sinclair und Morton, 1966; Fidorra, 1977). So zeichnen sich z.B. Zellen in der Mitose durch eine besonders hohe Strahlenempfindlichkeit aus. Dies bedeutet für eine fraktionierte Strahlenbehandlung, dass nach jeder Fraktion jeweils ein höherer Anteil von Zellen in den sensiblen Phasen inaktiviert wird und ein entsprechend höherer Anteil resistenter Zellen die Bestrahlung überlebt. Als Folge davon entsteht eine partielle Synchronisation der überlebenden Zellpopulation.

Aufgrund der biologischen Variabilität der Zellzykluszeit stellt sich innerhalb von etwa zwei Zellzyklen das ursprüngliche Verhältnis der verschiedenen Zyklusphasen wieder her. Dieser Vorgang wird als Redistribution bezeichnet. Ist zum Zeitpunkt der nächsten Fraktion eine vollständige Redistribution erfolgt, so wird ihre Wirkung der vorangegangenen entsprechen. Ist das Zeitintervall zwischen den Fraktionen zu kurz, um eine vollständige Redistribution zu gewährleisten, dann kann sich ein nennenswerter Teil der Zellen zum Zeitpunkt der nächsten Bestrahlung noch in einer der resistenteren Zellzyklusphasen befinden und die Bestrahlung hat in diesem Fall eine geringere Wirkung. Denkbar ist aber auch, dass die überlebenden Zellen bis zur Applikation der nächsten Fraktion in eine sensiblere Zellzyklusphase eingetreten sind. In diesem Fall wäre ein verstärkter Bestrahlungseffekt zu erwarten.

Die hieraus unmittelbar abzuleitende Möglichkeit, aus der Kenntnis der Dauer der Zellzyklusphasen sowohl von Tumor- als auch von Normalgeweben, die Bestrahlung jeweils in der empfindlichsten Phase des Zellzyklus der Tumorzellpopulation stattfinden zu lassen, wurde lange Zeit als sehr aussichtsreich diskutiert. In der Praxis besteht dennoch kaum die Möglichkeit, die Zellzykluseffekte für eine fraktionierte Strahlenbehandlung auszunutzen, da dies spezielle Informationen über Zyklusphasen des jeweiligen Tumor-

Wirt-Systems voraussetzt. Besonders für individuelle menschliche Tumoren sind diese nur sehr schwer zu ermitteln (Denekamp, 1980).

Bei einer Bestrahlung kommt es neben den Tumorzellen auch zur Bestrahlung von angrenzendem Normalgewebe. Die daraus resultierende Schädigung des Normalgewebes kann für den Patienten zu einer erheblichen Beeinträchtigung führen, und dadurch dosisbegrenzend sein. Es werden frühe und späte Normalgewebsschäden unterschieden. Frühe Normalgewebsschäden treten während oder kurz nach Ende der Therapie auf und heilen nach kurzer Zeit folgenlos ab. Typische Beispiele sind die Epitheliolyse und die Mukositis. Diese Reaktionen hängen bei konstanter Dosis pro Woche nur relativ wenig von der Dosis pro Fraktion ab. Späte Strahlenschäden treten Monate oder Jahre nach Ende der Therapie in langsam proliferierenden Geweben auf, sind irreversibel und oft progredient. Typische Beispiele sind Fibrosen von Lunge und Haut, Teleangiektasien und die Strahlenmyelopathie. Diese Schäden hängen stark von der Dosis pro Fraktion ab (vergl. Baumann, 1994).

Die in den letzten Abschnitten dargestellten Prozesse spielen bei der alleinigen Strahlentherapie eine bedeutende Rolle. Auch in der Kombination mit chirurgischen Eingriffen sind diese Prozesse von entscheidender Wichtigkeit. In der Klinik stellt heutzutage die postoperative Strahlentherapie die wichtigste Kombination dar (Algan et al., 1996; Fischer et al., 1995; Greven et al., 1997; Morris et al., 1997). Oftmals wird die postoperative Strahlentherapie einer primären Strahlentherapie gleichgesetzt, bei der durch die operative Entfernung des Tumors weniger klonogene Zellen zu inaktivieren sind. Dabei sollte man jedoch bedenken, dass durch die Operation andere Voraussetzungen geschaffen werden, als diese bei einem unbehandelten Tumor vorzufinden sind. Bei den oben beschriebenen Prozessen der Zellerholung und der Redistribution wird es kaum Unterschiede zwischen der präoperativen und postoperativen Situation geben. Bei der Repopulierung klonogener Tumorzellen spielt jedoch die Gesamtbehandlungszeit eine entscheidende Rolle. Diese ist durch die Pause zwischen Operation und Bestrahlungsbeginn, die mehrere Wochen betragen kann, gegenüber der primären Strahlentherapie deutlich verlängert. Die verbliebenen Tumorzellen haben so mehr Zeit zu proliferieren, bevor die Bestrahlung begonnen wird.

Auch die Sauerstoffversorgung kann maßgeblich verändert sein. Nach chirurgischer Entfernung des Tumors besteht kein Grund zur Annahme, dass in dem betreffenden Areal noch Hypoxie herrscht, da kein solides Tumorgewebe mehr vorhanden ist. Die eventuell nach Operation verbleibenden Tumorzellen liegen in der Peripherie zerstreut und können durch Diffusion mit Sauerstoff versorgt werden. Es lässt sich aufgrund dieser theoretischen Überlegungen annehmen, dass in dieser Situation keine zelluläre Hypoxie entsteht. Wenn keine hypoxischen Areale vorliegen, wäre mit einer Erhöhung des Bestrahlungseffektes zu rechnen, auch der Einfluß der Dosis pro Fraktion wäre beeinflusst. Während für solide R1H-Tumoren kein Einfluß der Dosis pro Fraktion nachgewiesen werden konnte (Beck-Bornholdt et al., 1989; Vogler et al., 1988; Würschmidt et al., 1988), hat die Dosis pro Fraktion bei der Bestrahlung oxygenierter pulmonaler Mikrometastasen des R1H-Tumors einen signifikanten Einfluss (Raabe et al., 2000).

Durch den chirurgischen Eingriff kommt es zudem zu Wundheilungsprozessen, die mit einer Vielzahl von physiologischen Faktoren, Cytokinen ect. verbunden sind. Infolgedessen kann es zu maßgeblichen Veränderungen des Mikromilieus kommen. Über den Einfluss dieser Veränderungen auf den Behandlungseffekt lässt sich nur spekulieren. Möglicherweise ist es aber nicht gerechtfertigt davon auszugehen, dass eine postoperative Bestrahlung von denselben Faktoren wie eine alleinige Bestrahlung bestimmt wird.

Trotz der allgemeinen Anwendung postoperativer fraktionierter Bestrahlung in der Klinik gibt es keine systematischen tierexperimentellen Untersuchungen zum Einfluß der Dosis pro Fraktion oder anderer Fraktionierungsparameter.

Experimentelle Untersuchungen dieser Art setzen die Verwendung eines geeigneten Versuchssystems voraus. Die Wahl des verwendeten Experimentaltumors ist aus diesen Gründen für die Aussagekraft der Untersuchung von entscheidender Bedeutung (Kallman, 1987). Das Tumor-Wirt-System sollte folgende Eigenschaften aufweisen:

1. Es darf keine spezifische Immunreaktion zwischen Tumor und Wirt stattfinden, weil diese die zu untersuchende Reaktion überlagern könnte. Diese Eigenschaft trifft auf spontan entstandene Tumoren eher zu als auf durch Viren oder chemische Substanzen künstlich erzeugte Tumoren (Embleton und Middle, 1981).

2. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, sollte es möglich sein, die Tumorzellen in eingefrorenem Zustand über längere Zeiträume aufzubewahren und in regelmäßigen Abständen Tumoren aus diesen Zellen anzuzüchten.
3. Der Tumor sollte ein möglichst langsames und reproduzierbares Wachstum zeigen, damit die zu untersuchenden Kollektive einen möglichst einheitlichen Verlauf zeigen.
4. Ein homogenes Tumor-Wirt-System ist besser geeignet, die Wechselwirkungen zwischen Tumor und Wirt zu erfassen, als ein Xenotransplantat auf Nacktmäusen, da bei letzterem die Tumorzellen vom Menschen und das Tumorstroma von den Mäusen stammen.
5. Die Morphologie sowie die Zellkinetik und die Reaktion des Tumors auf Einzeitbestrahlung sollte bekannt sein.

Das Rhabdomyosarkom R1H der Ratte besitzt diese Eigenschaften, so dass es als experimentelles System gut geeignet ist. Das Versuchssystem und die Reaktion auf Einzeit- und fraktionierte Bestrahlung ist in zahlreichen Untersuchungen gut beschrieben (Jung et al., 1980; Jung et al., 1981; Beck-Bornholdt et al., 1989; Jung et al., 1990; Würschmidt et al., 1990; Carl et al., 1990; Baumann et al., 1990; Zywietz, 1990; Würschmidt et al., 1991; Beck-Bornholdt et al., 1991).

Dieses Versuchssystem ermöglicht darüber hinaus nicht nur die Untersuchung der Strahlenwirkung auf die Tumorzellen selbst, sondern auch auf das strahlenempfindliche Normalgewebe. Insofern ist die Simulation einer klinisch relevanten Situation gegeben.

Folgende Endpunkte bieten sich zur Quantifizierung der Bestrahlungseffekte auf die Experimentaltumoren an:

1. die lokale Tumorkontrolle, d.h. der Anteil der lokal kontrollierten Tumoren nach Bestrahlung. Diese kann in der  $TCD_{50\%}$  (engl.: tumor control dose) ausgedrückt werden. Darunter wird die Dosis verstanden, bei der 50% der bestrahlten Tiere nach der Behandlung lokal kontrolliert sind. Sie dient der Bestimmung des kurativen Bestrahlungseffektes.
2. die Wachstumsverzögerung. Es wird hierbei die Zeit gemessen, bis ein Rezidiv ein definiertes Vielfaches des Startvolumen erreicht.

3. die Nettowachstumsverzögerung. Sie beschreibt das Zeitintervall, das das Rezidiv benötigt, um das doppelte Minimalvolumen zu erreichen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, anhand eines tierexperimentellen Versuchssystems den Einfluss der Dosis pro Fraktion auf die Wirkung der postoperativen Bestrahlung zu untersuchen und mit dem Effekt der alleinigen Bestrahlung zu vergleichen.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Tumor-Wirt-System

Für die vorliegende Arbeit wurde das Rhabdomyosarkom R1H der Ratte als Tumor-Wirt-System gewählt. Der R1H-Tumor ist ein in der Grundlagenforschung der Krebstherapie etabliertes Experimentaltumorsystem (Barendsen und Broese, 1969; Hermens und Barendsen, 1978; Curtis und Tenforde, 1980; Jung et al., 1981; Beck et al., 1981; Tenforde et al., 1982; Afzal et al., 1986). Die ursprüngliche Tumorzelllinie, das Rhabdomyosarkom BA 1112, wurde aus einem Tumor entwickelt, der 1962 in der Kinnbackenmuskulatur einer WAG/Rij-Ratte entstand, nachdem diese 8 Monate zuvor bestrahlt worden war (Reinhold, 1965). Durch weiteres Klonen und Transplantieren entstand 1966 die stabile Zelllinie des Rhabdomyosarkom R1 (Hermes und Barendsen, 1967; Barendsen und Broese, 1969), welche die Eigenschaft hat, sowohl in vitro als auch in vivo zu wachsen. Seit 1976 wird dieser Tumor am Institut für Biophysik und Strahlenbiologie der Universität Hamburg seriell transplantiert. Dabei erhöhte sich der DNA-Index spontan von 1.4 (Kal, 1980) auf 4.3 (Beck und Omniczynski, 1980). Diese neue Zelllinie erhielt den Namen R1H (Jung et al., 1980, 1981). Inzwischen ist der DNA-Gehalt auf das 3.6-fache der Wirtszellen abgesunken.

Der auf dem Tier befindliche Tumor wird seriell transplantiert, d.h. bei Erreichen eines Volumens von etwa 1 cm<sup>3</sup> wird der Tumor dem Spendertier entnommen und einem neuen Empfängertier transplantiert. Auf diese Weise steht der Tumor ständig für die Untersuchungen zur Verfügung. Dieses passagere Transplantieren hat den Nachteil, dass mit zunehmender Anzahl von Passagen eine nicht zu kontrollierende Veränderung der Tumorzelleigenschaften möglich ist. Um die Tumorkonstanz zu wahren, werden maximal zehn Passagen vorgenommen und dann aus einem kryokonservierten Vorrat der Ursprungstumor neu auf das Tier gebracht. Diese Art der Tumorstammhaltung führt im Vergleich zu anderen Methoden in der experimentellen Tumorforschung zu einem sehr konstanten Tumorsystem (Kallman, 1987).

Der R1H-Tumor wächst subkutan und solide, wodurch er für eine externe Volumenbestimmung leicht zugänglich ist. Bisher konnte keine spezifische Immunität der Wirtstiere gegenüber dem Tumor nachgewiesen werden.

Als Versuchstiere wurden männliche Albinoratten des Inzuchtstammes WAG/Rij verwendet, die ursprünglich in den Glaxo Laboratorien (Greenford, Middlesex, England) durch Inzucht konventioneller Tiere gezüchtet wurden. Alle Versuchstiere des vorliegenden Experimentes stammen aus der Zucht der Versuchstierhaltung des Universitätskrankenhauses Eppendorf. Die Tiere wurden in Makrolonkäfigen Typ 4 auf Weichholzgranulat bei künstlicher Beleuchtung (12 h Licht und 12 h Dunkelheit) gehalten. Sie erhielten pelletierte Haltungsdiät (Altromin 1324, Fa. Altromin) und Wasser ad libidum. Die Haltung entsprach den Empfehlungen von Baker et al. (1979) für die Labormaus. Eine Genehmigung zur Durchführung des Versuchsvorhabens wurde gemäß § 8 des Tierschutzgesetzes (BGB 1.1) von der Behörde für Arbeit, Gesundheit und Soziales der Hansestadt Hamburg erteilt.

## 2.2 Tumortransplantation

Der Tumor wurde den Versuchstieren transplantiert, wenn diese ein Gewicht von ungefähr 200g erreicht hatten. Dafür wurde der Tumor eines Spendertieres exzidiert und aus diesem ca. 1 mm<sup>3</sup> große, möglichst nekrose- und bindegewebsfreie Tumorstücke präpariert. Bis zur Implantation wurden diese in einer sterilen Petrischale auf mit physiologischer Kochsalzlösung befeuchtetem Mull gelagert. Die Tiere wurden für die Implantation mit 6 mg/kg Körpergewicht Rompun<sup>®</sup> (Fa. Bayer) und 50 mg/kg Körpergewicht Ketavet<sup>®</sup> (Fa. Parke-Davis) anästhesiert. Die Implantationsstelle in der Flanke unterhalb des Rippenbogens rechts wurde rasiert und desinfiziert und das zu implantierende Gewebe mit Hilfe eines ca. 8 mm langen Hautschnitts plziert. Die Wunde wurde mit 9 mm Metallklammern (Autoclips Clay Adams, USA) verschlossen, die nach ca. 9 Tagen wieder entfernt wurden. Die Tumoren wuchsen als von einer Bindegewebskapsel umschlossene ellipsoide derbe Gewebkörper heran.

## 2.3 Operation

Zur chirurgischen Exzision wurden die Tieren mit ca. 6 mg/kg Körpergewicht Rompun<sup>®</sup> (Fa. Bayer) und 50 mg/kg Körpergewicht Ketavet<sup>®</sup> (Fa. Parke-Davis) narkotisiert. Die Operationsstelle (rechte Flanke unterhalb des Rippenbogens) wurde rasiert und desinfiziert. Mit einem 2 bis 3 cm langem Hautschnitt wurde ein Zugang zum Tumor geschaffen. Das Tumorgewebe wurde entlang der Kapsel scharf präpariert und der Tumor entnommen. Die Abbildungen 2.1 und 2.2 zeigen Aufnahmen während der Operation. Das Tumorgewicht wurde mit Hilfe einer Präzisionswaage (Fa. Mettler) bestimmt. Die Entnahmestelle wurde mit 9 mm Metallklammern (Autoclips Clay Adams, USA) verschlossen. Sie wurden nach ca. 9 Tagen entfernt. Um eine Gleichmäßigkeit bei der chirurgischen Exzision zu erhalten, wurde die Operation bei allen Versuchstieren von dem selben Operateur durchgeführt.



Abb. 2.1: Nach Inzision lässt sich der gekapselte Tumor aus dem Zugang durch die Haut gut herausstülpen. Die Operation fand unter möglichst sterilen Bedingungen statt.



Abb. 2.2: Der Tumor lässt sich scharf an der Kapsel präparieren und gut entnehmen, ohne viel Normalgewebe zu verletzen. Die Operation fand unter möglichst sterilen Bedingungen statt.

In Anlehnung an die klinische Praxis wurde die Resektion in die Kategorien R0, R1 oder R2 eingestuft und in einem für jedes Tier angelegten Protokoll dokumentiert (siehe Abb. 2.3).

Von einer R0-Resektion spricht man, wenn sich das Tumorgewebe ohne Komplikationen und Besonderheiten entfernen lässt. Bei einer R1-Resektion kommt es bei der Tumorentfernung zu gewissen Einschränkungen: Der Tumor kann während der Operation aufbrechen oder mit der Umgebung verwachsen sein. Kommt es bei der Operation zu größeren Komplikationen, wie zum Beispiel durch Infiltration von Haut in das Tumorgewebe oder es lassen sich nach der Tumorentfernung noch Tumorreste vermuten und eine Nachresektion wird erforderlich, wird die Operation als R2-Resektion kategorisiert.

# OP Protokoll

Operateur:

Datum:

Exp.nr:

Tiernr.:

Tumorachsen:

Tumorvolumen:

Tumorgewicht:

<b>Tumor:</b>	einknollig	<b>Tumorperipherie mit der Haut</b>	Tumor frei verschiebbar
	einknollig mit Satelliten		verbacken
	mehrknollig		verwachsen
	hart		infiltriert
	weich	<b>mit der Unterlage</b>	verbacken
	zerfließend		verwachsen
	zentral nekrotisch		infiltriert
	mit Einblutung		

**OP-Ereignisse:** keine  
Tumor aufgebrochen  
Tumor in Stücken entfernt  
Tumorbett nachreseziert

**Gesamteinschätzung:** **RO-Resektion:** keine Besonderheiten oder Komplikationen.

**R1-Resektion:** gewisse Einschränkungen: Tumor aufgebrochen, verbacken, verwachsen.

**R2-Resektion:** Tumorreste zu vermuten: Infiltration von Haut o.ä., scharfe Nachresektion.

Abb. 2.3: Protokoll der Tumorexzision. Für jedes operierte Tier wurde während der Operation ein Protokoll geführt.

## 2.4 Bestrahlung

Die Tumoren wurden mit 200 kVp-Röntgenstrahlung (0.5 mm Cu-Filter) bei einer Dosisleistung von etwa 2 Gy/min bestrahlt. Zu diesem Zweck wurden die Tiere in einem Plexiglaskäfig (Durchmesser ca. 12 cm, Länge ca. 25 cm lang) gelagert. Dieser röhrenförmige Käfig besitzt eine verschiebbare Bleimanschette (Bleischicht 2 mm) mit einer 4 cm x 5 cm großen Öffnung für den Tumor. Durch die Bleiummantelung wurde eine Mitbestrahlung des restlichen Körpers des Tieres auf ein Minimum reduziert. Die Versuchstiere wurden während der Bestrahlung mit zwei Stempeln in der Plexiglasröhre fixiert (siehe Abbildung 2.4 und 2.5). Trotz dieser Fixierung war eine Verschiebung der Tumoren in horizontaler wie vertikaler Achse um ca. 5 mm möglich. Dies entspricht einem Dosisfehler von 4% (Vogler, 1988). Um eine gleichmäßige Bestrahlung des Tumors zu gewährleisten, wurden die Tiere täglich alternierend von der linken oder rechten Seite bestrahlt. Während der Bestrahlung wurde die korrekte Lage des Tumors durch eine Videokamera überwacht. Die applizierte Dosis wurde mit einem Dosimeter (Fa. Seifert) gemessen, das an jedem Bestrahlungstag geeicht wurde.

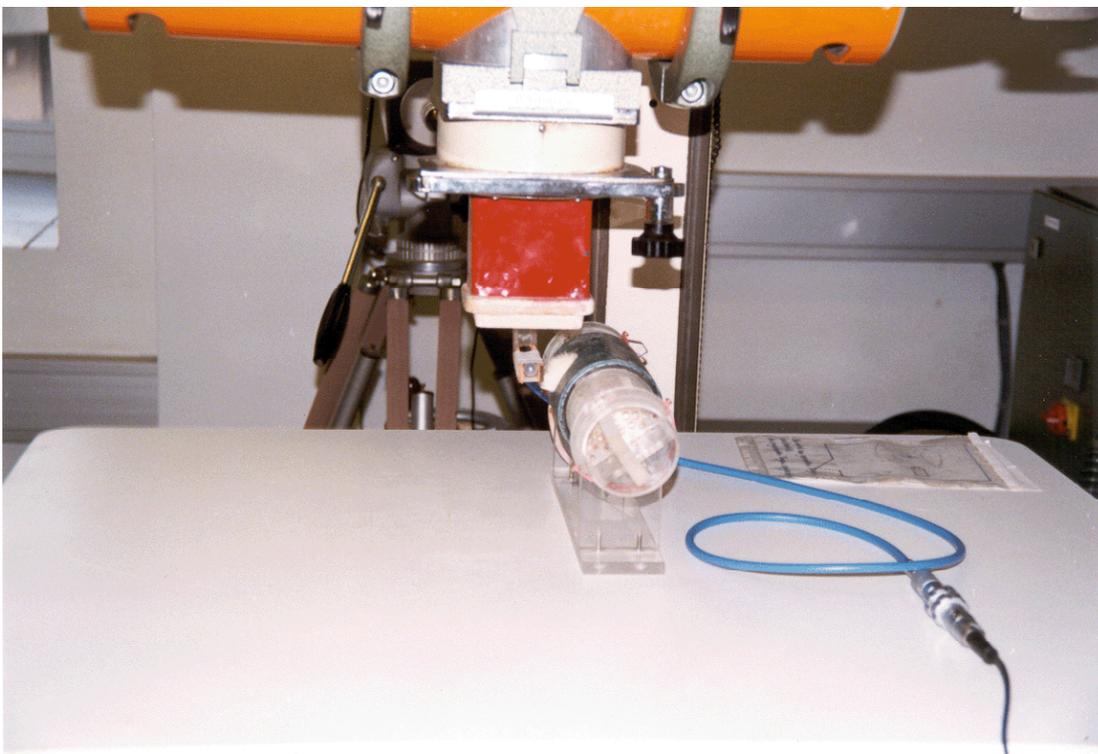


Abb. 2.4: Der Plexiglaskäfig mit dem Versuchstier steht positioniert unter der Bestrahlungsrohre. Links von dem Käfig ist die Messsonde des Dosimeters zu sehen.

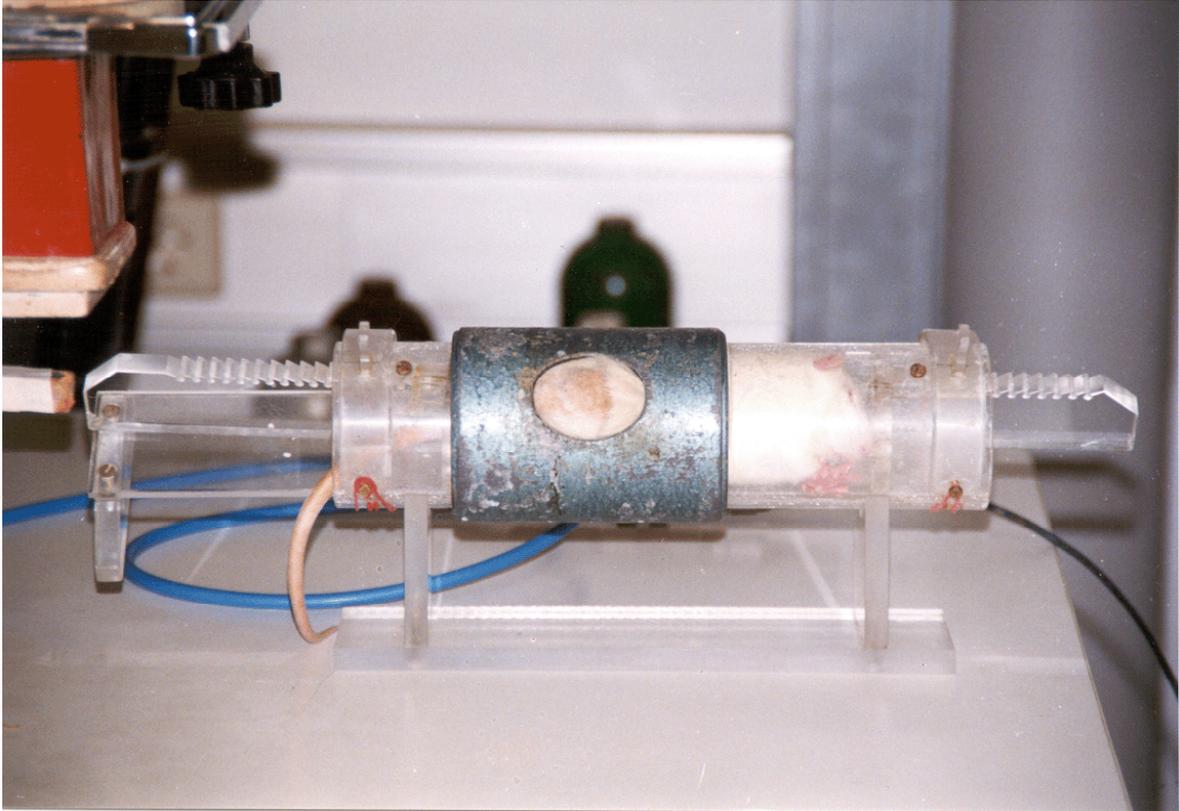


Abb. 2.5: Plexiglaskäfig mit Versuchstier. Das Tier ist mit zwei Stempeln in der Röhre fixiert. In der Mitte befindet sich ein beweglicher Bleizylinder mit einer Aussparung, die der Fläche des Bestrahlungsfeldes von ca. 4 x 5cm entspricht.

Auf eine Anästhesie während der Bestrahlung wurde verzichtet, da Narkotika die Durchblutung und somit die Verfügbarkeit von Sauerstoff verändern und infolgedessen die Strahlenempfindlichkeit von Tumoren beeinflussen. Über den Einfluss der Anästhesie auf die Durchblutung von Tumoren liegen unterschiedliche Ergebnisse vor. So ermittelten Johnson et al. (1976) eine Perfusionsminderung von 5% bis 20% sowie einen Temperaturabfall im Tumor als Folge einer Anästhesie. Zanelli (1975) hingegen zeigte an verschiedenen Tumorsystemen eine Durchblutungssteigerung um 30% bis 100%. Shibamoto et al. wiesen 1987 nach Anästhesie mit Natrium-Pentobarbital (Nebutal®) eine Erhöhung der hypoxischen Fraktion von 5% auf 23% nach. Menke und Vaupel (1988) zeigten für das DS-Karzinom auf Sprague-Dawley-Ratten eine außerordentlich große Variationsbreite der Durchblutungsveränderung durch unterschiedliche Narkotika. Aber auch die direkte strahlensensibilisierende Wirkung eines Pharmakons und seiner Metabolite konnte durch Kal und Gaiser (1980) für das Inhalationsnarkotikum Enfluran® nachgewiesen werden.

Die Bestrahlung unter Narkose wäre aus diesem Grund mit einer intensivmedizinischen Betreuung der Tiere verbunden, da die Kreislaufparameter konstant zu halten wären. Ein solcher Aufwand steht in keinem gerechtfertigten Verhältnis zu dem ohne Anästhesie nicht zu vermeidenden Dosisfehler von 4% (s.o.).

## 2.5 Versuchsbeginn

Nach Transplantation wurden die Tumoren werktäglich vermessen. Bei Erreichen des Tumorstartvolumens von mindestens  $1.0 \text{ cm}^3$  wurden die Tiere per Zufallsentscheid den verschiedenen Versuchsgruppen zugeordnet. Die Tiere wurden bis zu dreimal pro Woche in den Versuch aufgenommen. Das gewählte Startvolumen stellt einen Kompromiss dar zwischen der Notwendigkeit, grosse Tumoren zu untersuchen, die nach chirurgischer Exzision rezidivieren, und dem Risiko der erhöhten Metastasierungswahrscheinlichkeit mit zunehmendem Tumolvolumen. Das Auftreten von Lungenmetastasen bedeutet, dass diese Tiere getötet werden müssen und somit vorzeitig aus dem Versuch genommen werden.

## 2.6 Studienaufbau und Gruppenbelegung

Zur Untersuchung des Einflusses der Dosis pro Fraktion wurden unter Verwendung einer konstanten Wochendosis die Tiere mit 1.2, 2.0 bzw. 4.0 Gy pro Fraktion bestrahlt und die Wirkung der Behandlung auf den Tumor verglichen. Die im Rahmen des Experimentes untersuchten Dosisgruppen der postoperativen sowie der alleinigen Bestrahlungsgruppen sind in Tabelle 2.1 dargestellt. Zur Bestimmung des Effektes der Operation wurde eine Gruppe nur operierter Tiere mitgeführt.

Tab. 2.1: Gesamtdosen und Gesamtbehandlungszeiten der postoperativen sowie der Standard-Behandlungsgruppen

<b>Dosis pro Fraktion</b>	<b>Gesamtbehandlungszeit (Wochen)</b>					
	<b>1 W</b>	<b>1 W</b>	<b>2 W</b>	<b>3 W</b>	<b>4 W</b>	<b>5 W</b>
<i>Postop. Bestrahlung</i>						
<b>1.2 Gy</b>	7.2 Gy	12 Gy	24 Gy	36 Gy	48 Gy	60 Gy
<b>2.4 Gy</b>	7.2 Gy	12 Gy	24 Gy	36 Gy	48 Gy	60 Gy
<b>4.0 Gy</b>	8.0 Gy	12 Gy	24 Gy	36 Gy	48 Gy	60 Gy
<i>Alleinige Bestrahlung</i>	<b>5 W</b>	<b>5 W</b>	<b>5 W</b>	<b>5 W</b>	<b>5 W</b>	<b>5 W</b>
<b>2.4 Gy</b>	40.8 Gy	62.4 Gy	69.6 Gy	76.8 Gy	84.0 Gy	91.2 Gy

Die postoperative Bestrahlung wurde drei Tage nach Tumorexzision begonnen und bei konstanter Dosis pro Woche innerhalb von einer bis fünf Wochen verabreicht. Es wurden jeweils 5 Tage in Folge bestrahlt, gefolgt von einer zweitägigen Pause. Um die Gesamtdosis in der vorgegebenen Behandlungsdauer zu applizieren, erhielten die Tiere z.T. zwei Fraktionen pro Tag, wobei ein Zeitintervall zwischen den Fraktionen von mindestens 6 Stunden eingehalten wurde.

In den Behandlungsgruppen mit 1.2 Gy pro Fraktion wurden 2 Fraktionen pro Tag, d.h. 10 Fraktionen pro Woche verabreicht, Behandlungen mit 2.4 Gy pro Fraktion wurden unter Verwendung einer täglichen Fraktion und 5 Fraktionen pro Woche appliziert, während Tiere der Gruppen mit 4.0 Gy pro Fraktion 3 Fraktionen pro Woche erhielten. Durch dieses Bestrahlungsschema wurde eine konstante Dosis pro Woche von 12.0 Gy gewährleistet. Die Gesamtbehandlungszeiten betragen je nach Gesamtdosis eine bis fünf Wochen, dies entspricht Gesamtdosen von 12.0 bis 60.0 Gy. In den niedrigsten Dosisgruppen von 7.2 Gy bzw. 8.0 Gy lag die Wochendosis zwangsläufig niedriger, es wurden in den einzelnen Behandlungsgruppen 6 Fraktionen á 1.2 Gy, 3 Fraktionen á 2.4 Gy, bzw. 2 Fraktionen á 4.0 Gy verabreicht.

Die alleinige Bestrahlung wurde innerhalb einer Gesamtbehandlungszeit von fünf Wochen appliziert. Es wurden Gesamtdosen von 40.8 Gy, 62.4 Gy, 69.6 Gy, 76.8 Gy, 84.0 bzw. 91.2 Gy verabreicht. Die Dosis pro Fraktion betrug 2.4 Gy, die Anzahl der Fraktionen variierte zwischen 3 und 8 Fraktionen pro Woche. Tabelle 2.2 bietet eine Übersicht der Fraktionierungsparameter.

Tab.2.2: Dosisgruppen und Fraktionierungsparameter der Versuchsarme

	<b>OP + Bestrahlung</b>	<b>Alleinige Bestrahlung</b>
<b>Gesamtdosis (Gy)</b>	7.2* (bzw.8.0*), 12.0, 24.0, 36.0, 48.0, 60.0	40.8, 62.4, 69.6, 78.8, 84.0, 91.2
<b>Dosis pro Fraktion</b>	1.2, 2.4, 4.0	2.4
<b>Gesamtbehandlungszeit (w)</b>	1, 2, 3, 4, 5	5
<b>Fraktionen pro Woche</b>	3*, 5*, 10*	3 bis 8
<b>Dosis pro Woche (Gy)</b>	12	7.2 bis 19.2

\* in der niedrigsten Dosisgruppe wurden 7.2 Gy in 6 Fraktionen á 1.2 Gy bzw. in 3 Fraktionen á 2.4 Gy sowie 8.0 Gy in 2 Fraktionen á 4.0 Gy verabreicht.

Insgesamt wurden 159 Tiere gleichmäßig auf alle Behandlungsarme und Dosisgruppen verteilt, wobei eine Gruppenstärke von mindestens 6 Tieren angestrebt wurde. Die Gruppenbelegung ist in der Tabelle 2.3 dargestellt. Die Kontrollgruppe mit nur operierten Tieren wurde mit 14 Versuchstieren belegt.

Tab. 2.3: Anzahl der Tiere in den einzelnen Behandlungsgruppen.

<b>Dosis pro Fraktion</b> <i>Postop. Bestrahlung (Gy/f)</i>	<b>Gesamtdosis (Gy)</b>					
	<b>7.2/8.0</b>	<b>12.0</b>	<b>24.0</b>	<b>36.0</b>	<b>48.0</b>	<b>60.0</b>
<b>1.2</b>	5	8	6	7	6	5
<b>2.4</b>	5	6	7	6	6	6
<b>4.0</b>	5	7	6	7	6	6
<b>Alleinige Bestrahlung (Gy/f)</b>	<b>40.8</b>	<b>62.4</b>	<b>69.6</b>	<b>76.8</b>	<b>84.0</b>	<b>91.2</b>
<b>2.4</b>	5	6	6	6	6	6
<b>Nur OP</b>	14					

## 2.7 Endpunkte

Behandelt man ein Kollektiv von Tumoren, so können diese entweder durch die Behandlung lokal kontrolliert werden oder aber als Rezidive die Behandlung überstehen. Messbare experimentelle Parameter für die Effektivität einer Strahlenbehandlung ist somit neben der lokalen Tumorkontrolle, die als Maß des kurativen Effektes den Anteil der lokal kontrollierten Tumoren erfasst, die Wachstumsverzögerung der nicht geheilten Tumoren, die den palliativen Effekt der Behandlung beschreibt.

### 2.7.1 Lokale Kontrolle

Werden durch die Bestrahlung alle klonogenen Tumorzellen inaktiviert, kommt es zur lokalen Kontrolle des bestrahlten Tumors. Die Tiere wurden über mindestens 240 Tage nach Ende der Strahlenbehandlung beobachtet. Als Rezidiv wurden Tumoren gewertet, die nach Erreichen eines minimalen Volumens nach Ende der Behandlung wieder kontinuierlich zu wachsen begannen. Bei Rezidivvolumina von 10 cm<sup>3</sup> oder bei Verschlechterung des Allgemeinzustandes wurden die Tiere getötet. Insgesamt 10 Tiere mußten aufgrund anderer Ereignisse, wie z.B. Metastasen oder Tumoren anderer Lokalität vorzeitig aus dem Versuch genommen werden. Diese wurden am Todestag zensiert.

### 2.7.2 Wachstumsverzögerung

Werden durch die Bestrahlung nicht alle Tumorzellen inaktiviert, so beginnt der Tumor als Rezidiv aufzuwachsen. Das Zeitintervall zwischen zwei definierten Volumina vor und nach der Behandlung lässt sich als Wachstumsverzögerung quantifizieren. Zur Bestimmung der Wachstumsverzögerung gibt es verschiedene Vorgehensweisen, die sich hauptsächlich darin unterscheiden, zwischen welchem prä- und posttherapeutischen Volumen die Wachstumsverzögerung bestimmt wird. Rezidivierende Tumoren weisen oft eine Verzögerung der Wachstumsgeschwindigkeit auf, die typischerweise bei

Wiedererreichen des Startvolumens beobachtet wird. Dieses Phänomen wird als Tumor-Bett-Effekt bezeichnet und als Schädigung der Endothelien der Gefäße im Tumorbett interpretiert. Soll die Wirkung der Strahlentherapie ausschließlich auf die klonogenen Tumorzellen und nicht auf das Tumorbett betrachtet werden, so bietet sich dafür der Parameter der Nettowachstumsverzögerung an (Beck-Bornholdt et al., 1987). Der Tumor-Bett-Effekt lässt sich aus der Differenz der Wachstumsverzögerung und der Nettowachstumsverzögerung ermitteln.

## 2.8 Wachstumskurven

### 2.8.1 Volumenbestimmung

Nach Transplantation wuchsen die Tumoren als elipsoide Körper heran. Ihre Lage und Verschiebbarkeit ermöglichte eine externe Größen- bzw. Volumenbestimmung unter Verwendung einer Schublehre (Fa. Mauser). Unter der Annahme, dass es sich bei den Tumoren um Rotationselipsoide handelt, die durch zwei senkrecht aufeinander stehenden Achsen vermessen werden können (Hütte, 1955), wurde das Volumen mit Hilfe folgender Formel berechnet:

$$V = (a - 2d)(b - 2d)^2 x \frac{\pi}{6} \quad \text{[Gleichung 2]}$$

wobei  $a$  die größere,  $b$  die kleinere der beiden Achsen und  $d$  die Hautdicke beschreibt. Da bei der externen Tumormessung zwangsläufig die Haut in die Messung mit eingeht, muss die Volumenbestimmung entsprechend korrigiert werden. Zu diesem Zweck wurde die Hautdicke von 15 männlichen Ratten bestimmt. Sie betrug im Mittel 1.3 mm.

Die untere Grenze der Messbarkeit der Tumorachsen war bei einer Achslänge von 5 mm erreicht. Bei kleineren Tumoren war ein Ausmessen nicht mehr möglich. In diesen Fällen wurden die Tumoren mit Hilfe einer qualitativen Skalierung als *eben noch tastbar*, *tastbar*, *gut tastbar* und *fast messbar* beurteilt. Um dem jeweiligen Tastbefund ein entsprechendes Tumolvolumen zuordnen zu können, wurden jeweils fünf bzw. sechs Tumoren bei

entsprechender Größe exstirpiert und deren Gewicht mit Hilfe einer Analysenwaage bestimmt. Aus den einzelnen Messwerten wurden die Mittelwerte berechnet (Tab. 2.4) und diese bei der Auswertung als tatsächliches Tumolvolumen verwendet.

Tab. 2.4: Korrelation der qualitativen Skalierung von kleinen, mit der Schieblehre nicht ausmessbaren Tumoren und deren tatsächlichem Gewicht

<b>Tastbefund</b>	<b>Gewicht (g) (Mittelwert <math>\pm</math>SEM )</b>
<b>fast messbarer Tumor</b>	0,22 $\pm$ 0.02
<b>gut tastbarer Tumor</b>	0,2 $\pm$ 0.04
<b>Tastbarer Tumor</b>	0,09 $\pm$ 0.02
<b>eben noch tastbarer Tumor</b>	0,02 $\pm$ 0.01

## 2.8.2. Erstellung der Wachstumskurven

Die Tumolvolumina wurden auf einer halblogarithmischen Skala gegen die Zeit aufgetragen. Als Nullpunkt wurde der Tag der ersten Bestrahlung gewählt. Die abzuleitenden Wachstumskurven zeigen das Tumolvolumen in Abhängigkeit von der Zeit.

## 2.8.3 Aus der Wachstumskurve abgeleitete Parameter

### 2.8.3.1 Wachstumsverzögerung und Nettowachstumsverzögerung

Als Wachstumsverzögerung (WVZ) wird das Zeitintervall zwischen Bestrahlungsbeginn und Erreichen des doppelten Tumorstartvolumens bezeichnet. Die Nettowachstumsverzögerung (nWVZ) dagegen wird definiert als das Zeitintervall zwischen dem Zeitpunkt, an dem der Tumor nach der Behandlung das Doppelte seines Minimalvolumens nach Behandlungsbeginn erreicht hat, und dem Zeitpunkt, an dem der unbehandelte Tumor in der Phase seines Aufwachsens das gleiche Volumen besaß (Beck-Bornholdt et. al, 1987). Durch diese Definition kann die Zeit zwischen den beiden Aufwuchsphasen ohne eine nennenswerte Beeinflussung des Aufwachsens durch das

Tumorbett erfaßt werden. Zur Bestimmung der Nettowachstumsverzögerung wird folgendermaßen vorgegangen:

1. Das kleinste Tumolvolumen nach Ende der Bestrahlung ( $V_{\min}$ ) wird aus den drei kleinsten in Folge gemessenen Volumina ermittelt.
2. Das Doppelte von  $V_{\min}$  ergibt das Volumenniveau für die Bestimmung der nWVZ.
3. Der Zeitpunkt  $t_A$ , an dem der Tumor  $2 \times V_{\min}$  erreicht hat, wird aufgesucht.
4. Der Zeitpunkt  $t_B$ , an dem der Tumor nach Ende der Bestrahlung durch Wiederaufwachsen  $2 \times V_{\min}$  erreicht hatte, wird aus der Kurve abgelesen.
5. Das Zeitintervall  $t_A$  bis  $t_B$  ergibt die Nettowachstumsverzögerung in Tagen (nWVZ).

Abbildung 2.6 zeigt eine schematisierte Wachstumskurve. Aufgetragen ist das Tumolvolumen als Funktion der Zeit nach Bestrahlungsbeginn. In der ersten Woche nach Bestrahlungsbeginn nimmt das Tumolvolumen zunächst noch geringfügig zu, bevor eine deutliche Volumenabnahme zu beobachten ist. Nach Erreichen des Minimalvolumens ( $V_{\min}$ ) wächst der Tumor wieder auf. Nach einer Phase deutlich verlangsamter Volumenzunahme (Tumor-Bett-Effekt) ist die Wachstumskinetik des Rezidivs mit der eines unbehandelten Tumors vergleichbar. Rechnerisch lässt sich der Tumor-Bett-Effekt (TBE) als Differenz der Nettowachstumsverzögerung und der Wachstumsverzögerung bestimmen. Für die Bestimmung der Parameter Wachstumsverzögerung (WVZ) und Nettowachstumsverzögerung (nWVZ) sind die relativen Volumina wiedergegeben, anhand derer sie bestimmt werden.

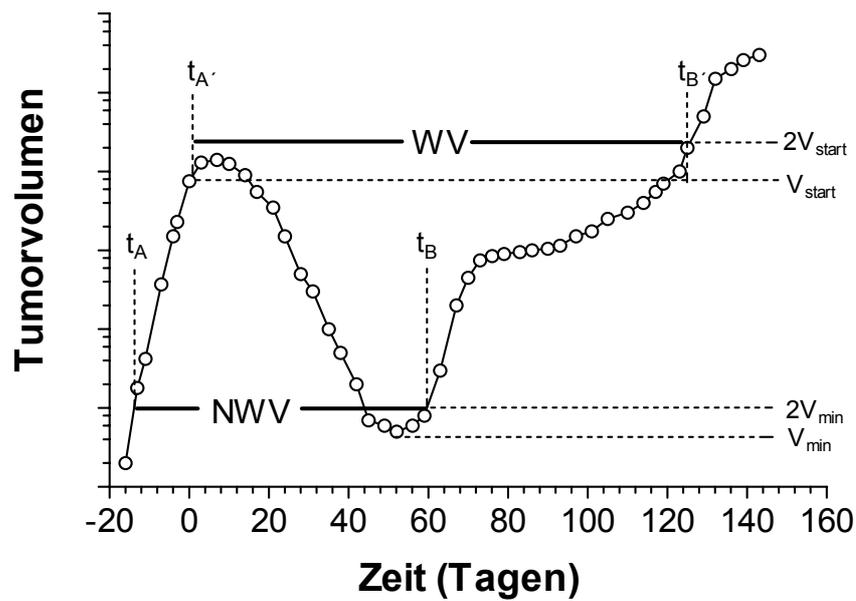


Abb. 2.6: Schematisierte Wachstumskurve. Aufgetragen ist das Tumolvolumen als Funktion der Zeit nach Bestrahlungsbeginn. Die Bestimmung der Wachstumsverzögerung und der Nettowachstumsverzögerung ist grafisch dargestellt. Der Tumor-Bett-Effekt lässt sich rechnerisch aus den Parametern der Wachstumsverzögerung und der Nettowachstumsverzögerung ermitteln.

### 2.8.3.2 Tumor-Bett-Effekt

Der Tumor-Bett-Effekt (TBE) gibt den Einfluss der Behandlung auf das Tumorstroma wieder. Er wird durch die Differenz aus Wachstumsverzögerung (WVZ) und Nettowachstumsverzögerung (nWVZ) ermittelt.

## 2.9 Mathematische Methoden

### 2.9.1 Zensieren

Die lokale Tumorkontrollrate  $P$  ist gegeben durch:

$$P = \frac{n_{LC}}{n_{LC} + n_R} \quad \text{[Gleichung 3]}$$

wobei  $n_{LC}$  die Anzahl der lokal kontrollierten und  $n_R$  die Anzahl der rezidierten Tumoren ist.

In einigen Fällen versterben Tiere jedoch vor dem Ende der Beobachtungszeit an interkurrenten Erkrankungen ohne ein Rezidiv entwickelt zu haben. In diesen Fällen kann die Information einer lokalen Tumorkontrolle nur bis zum Todeszeitpunkt festgestellt werden. Zu diesem Zeitpunkt wird das Tier für den Endpunkt "lokale Tumorkontrolle" zensiert. Diese unvollständige Information kann mit Hilfe der Kaplan-Meier-Methode bei der Berechnung der lokalen Kontrollrate berücksichtigt werden.

Das zensierte Tier geht dabei im allgemeinen nicht als ganzes Tier, sondern als ein Bruchteil  $x$  in die Berechnung der Heilungsrate  $P'$  ein (Beck-Bornholdt, persönliche Mitteilung):

$$P' = \frac{n_{LC} + x}{n_{LC} + n_R + x} \quad \text{[Gleichung 4]}$$

Daraus folgt für den Bruchteil  $x$ :

$$x = \frac{P'}{1 - P'} n_R - n_{LC} \quad \text{[Gleichung 5]}$$

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden beispielsweise nach alleiniger Bestrahlung mit 76,8 Gy drei Rezidive und zwei lokale Tumorkontrollen beobachtet. Zusätzlich musste

in dieser Gruppe ein Tier wegen Lungenmetastasen am Tag 77 nach Behandlungsbeginn vorzeitig aus dem Versuch genommen werden. Es wurde nach o.g. Methode zensiert. Zwei der Rezidive traten vor, eines nach der Zensierung auf. Nach Kaplan-Meier ergibt sich für diesen Fall eine lokale Kontrollrate von:

$$P' = \frac{5}{6} \times \frac{4}{5} \times \frac{2}{3} = 0,444.$$

Für x erhalten wir nach obiger Formel:

$$x = \frac{0,444}{1 - 0,444} \cdot 3 - 2 = 0,40$$

Das zensierte Tier entspricht somit 0,4 geheilten Tieren und wird mit diesem Wert in der Auswertung berücksichtigt.

## 2.9.2 Maximum-Likelihood-Methode

Die Maximum-Likelihood-Methode dient zur Schätzung unbekannter Parameter. Sie eignet sich zudem auch zum Vergleich der Beschreibung eines Datensatzes durch unterschiedliche Modelle (Sachs, 1991).

Beschreibt man einen gegebenen Datensatz mit einem Modell, das eine bestimmte Anzahl an Parametern enthält, so ergibt sich, dass einige Kombinationen dieser Parameter besser dazu geeignet sind, die Daten zu beschreiben, als andere. Um zu bestimmen, wie gut eine Parameterkombination die Daten beschreibt, wird die Fragestellung umgekehrt. Man überprüft, mit welcher Wahrscheinlichkeit die gemessenen Daten bei einer gegebenen Kombination von Parametern beobachtet werden. Diese Wahrscheinlichkeit wird mit der Mutmaßlichkeit (Likelihood) der Parameter gleichgesetzt. Bei der Maximum-Likelihood-Methode werden die Parameter des Modells nun so optimiert, dass die Wahrscheinlichkeit, die gemessenen Daten zu beobachten, maximal wird. Diese Methode wird mit der Anzahl der Parameter komplizierter. Die Maximum-Likelihood-Methode wird in der Regel mit

Hilfe eines Rechnerprogramms angewendet, das die unterschiedlichen Parameterkombinationen hinsichtlich der Likelihood optimiert.

Durch Auftragen des natürlichen Logarithmus der Likelihood gegen den variierten Parameter ergibt sich ein typischer Kurvenverlauf (Abbildung 2.7). Der Parameterwert, der den Datensatz am besten beschreibt, steht im Zusammenhang mit dem Scheitelpunkt der Kurve.

Weiterhin kann man mit der Maximum-Likelihood-Methode den 95%-Vertrauensbereich für die ermittelten optimierten Parameter feststellen. In ihm liegen alle Parameterwerte, die mit einem natürlichen Logarithmus der Likelihood verknüpft sind, der größer als der natürliche Logarithmus der maximalen Likelihood minus 1.92 ist (siehe Abbildung 2.7). Der Wert 1.92 leitet sich aus der  $\chi^2$ -Statistik ab (Beck-Bornholdt, 1995 b).

Optimiert man für unterschiedliche Versuchsarme einen Parameter, so sind diese dann signifikant verschieden, wenn die Differenz der natürlichen Logarithmen der Maximum-Likelihood-Werte größer als 1.92 ist.

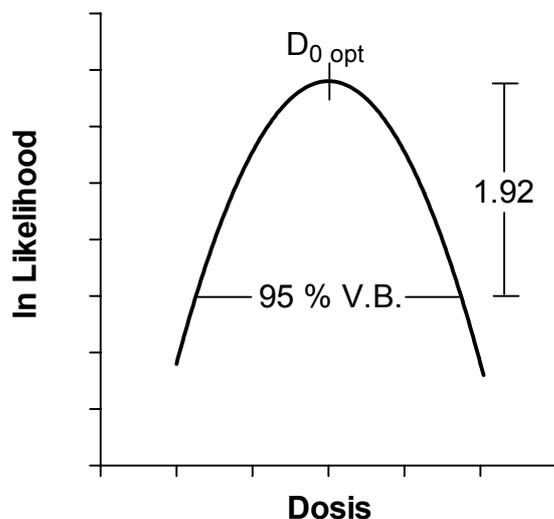


Abb. 2.7: Maximum-Likelihood-Methode. Schematisiert ist dargestellt, dass sich für den natürlichen Logarithmus der Likelihood [ln Likelihood] in Abhängigkeit der  $D_0$  eine parabelartige Funktion ergibt. Der Scheitelpunkt dieser Funktion weist den  $D_0$ -Wert auf, der den Datensatz am besten beschreibt ( $D_{0 \text{ opt}}$ ). Verringert man  $\ln \text{Likelihood}(D_{0 \text{ opt}})$  um 1.92, so erhält man den 95%-Vertrauensbereich für die  $D_0$ .

## 2.10 Tumorkontrolldosis 50%

Die Tumorkontrolldosis 50% (TCD<sub>50</sub>) gibt diejenige Dosis an, bei der 50% der Tumoren lokal kontrolliert werden. Sie kann aus den lokalen Tumorkontrollraten der einzelnen Dosisgruppen unter Berücksichtigung der applizierten Gesamtdosis und des Tumolvolumens berechnet werden (Beck-Bornholdt, 1994).

Für die Berechnung der TCD<sub>50</sub> wurden folgende Annahmen gemacht:

1. Eine einzelne überlebende Tumorzelle reicht aus, um ein Tumorrezidiv zu verursachen (Hewitt, 1968; Steel und Adams, 1975).
2. Die Zahl der nach einer Bestrahlung überlebenden Zellen lässt sich bei kleinen Zellzahlen durch die Poisson-Statistik beschreiben.
3. Die einzelnen Fraktionen der Strahlenbehandlung sind isoeffektiv.

Wenn ein Tumor, der  $N_0$  klonogene Zellen besitzt, in einem Experiment lokal kontrolliert werden soll, so müssen alle  $N_0$  klonogenen Zellen durch die Bestrahlung inaktiviert werden. Für die Fragestellung, ob es zu einem Rezidiv kommt, ist jedoch nur die Zahl der Zellen interessant, die nicht letal getroffen werden. Man kann nie mit hundertprozentiger Sicherheit davon ausgehen, dass alle Zellen bei einer Bestrahlung getroffen werden, da die letalen Ereignisse bei der Bestrahlung von Tumoren zufallsverteilt sind.

Aus der Poisson-Verteilung ergibt sich allgemein:

$$P(x;N) = \frac{N^x \times \exp(-N)}{x!} \quad \text{[Gleichung 6]}$$

$P(x;N)$  ist die Wahrscheinlichkeit in einem Bestrahlungsexperiment  $x$  überlebende klonogene Zellen zu erhalten, wenn im Mittel  $N$  Zellen die Bestrahlung überleben.

Um einen Tumor lokal zu kontrollieren, darf keine einzige Tumorzelle überleben ( $x = 0$ ).  
Aus obiger Formel folgt:

$$P(0;N) = \frac{N^0 \times \exp(-N)}{0!} = \exp(-N) \quad \text{[Gleichung 7]}$$

Bei der  $TCD_{50}$  beträgt die Wahrscheinlichkeit für eine lokale Tumorkontrolle 50% ( $P=0,5$ ). Aus Gleichung 7 folgt  $0,5 = \exp(-N)$ , oder  $N = \ln 2$ , d.h. wenn die Gesamtdosis so gewählt wird, dass im Durchschnitt  $\ln 2$  klonogene Tumorzellen die Behandlung überleben, dann ist die Tumorkontrollrate 50%.

Die durchschnittliche Anzahl der überlebenden Tumorzellen lässt sich unter den oben genannten Voraussetzungen als Funktion der Dosis darstellen (Steel, 1993):

$$N(D) = N_0 \exp(-D/D_0) \quad \text{[Gleichung 8]}$$

wobei  $N_0$  die Zellzahl zu Bestrahlungsbeginn,  $D$  die Gesamtdosis und  $D_0$  die charakteristische Konstante für die Strahlenempfindlichkeit der Tumorzellen darstellen.

Appliziert man eine Dosis, die genau der  $TCD_{50}$  entspricht, dann wird Gleichung 8 zu:

$$\ln 2 = N_0 \exp(-TCD_{50}/D_0) \quad \text{[Gleichung 9]}$$

$$\text{bzw. } D_0 = TCD_{50}/(\ln N_0 - \ln \ln 2) \quad \text{[Gleichung 10]}$$

Einsetzen von Gleichung 10 in Gleichung 8 und von Gleichung 8 in Gleichung 7 ergibt:

$$P = \exp\{-N_0 \exp[(\ln N_0 - \ln \ln 2)D/TCD_{50}]\} \quad \text{[Gleichung 11]}$$

Die unterschiedlichen Startvolumina  $V_0$  der Tumoren wurden dadurch berücksichtigt, dass  $N_0$  als Produkt aus der numerischen Zelldichte  $n_0$  und dem gemessenen Startvolumen  $V_0$  in die Berechnung einging:

$$P = \exp\{-n_0 V_0 \exp[(\ln N_0 - \ln \ln 2)D/TCD_{50}]\} \quad [\text{Gleichung 12}]$$

Die Berechnung der  $TCD_{50}$  und der zugehörigen 95% Vertrauensbereiche erfolgte mit Hilfe der Maximum-Likelihood-Methode:

$$L = \frac{n! P^k (1-P)^{n-k}}{k! \times (n-k)!} \quad [\text{Gleichung 13}]$$

wobei  $n$  die Gesamtzahl an Tieren in der Gruppe und  $k$  die Zahl der lokal kontrollierten Tumoren darstellt.

Durch die Chirurgie wird das Ausgangsvolumen  $V_0$  der Tumoren um einen bestimmten Faktor auf das postoperative Tumolvolumen  $V$  reduziert. Es wurde davon ausgegangen, dass dieser Faktor von Operation zu Operation sehr variabel ist und einer log-Normalverteilung mit einem Mittelwert  $\chi$  und einer Variabilität  $\sigma$  gehorcht:

$$V = (\chi \pm \sigma) V_0 \quad [\text{Gleichung 14}]$$

Bei der Auswertung der postoperativen Behandlungsarme wurden die für die nur bestrahlten Tumoren ermittelten Werte für  $D_0$  und  $n_0$  eingesetzt und die Parameter  $\chi$  und  $\sigma$  mit Hilfe der Maximum-Likelihood-Methode geschätzt.

## 2.11 Nachbeobachtung der Tumoren

Bei der Durchführung von Tumorkontrollexperimenten muss eine ausreichend lange Nachbeobachtungszeit eingehalten werden, um sämtliche oder zumindest fast alle Rezidive zu erfassen. Dieser Beobachtungszeitraum kann für das jeweilige Tumormodell erheblich

variieren und muss daher individuell bestimmt werden. Aus Angaben in der Literatur kann das Rhabdomyosarkom als lokal kontrolliert betrachtet werden, wenn ein halbes Jahr nach Ende der Therapie Rezidivfreiheit besteht (Moulder et al., 1976). Für den R1H-Tumor ist die notwendige Dauer der Nachbeobachtung gut bekannt. Nach Beck-Bornholdt (1987) treten 99% der Rezidive des R1H-Tumors nach Bestrahlung innerhalb von 180 bis 220 Tagen nach Bestrahlungsbeginn auf. Zieron (1996) beobachtete das späteste Rezidiv 198 Tage nach Bestrahlungsbeginn. Im vorliegenden Experiment konnten vergleichbare Beobachtungen gemacht werden. Die Nachbeobachtungszeit betrug mindestens 240 Tage. Abbildung 2.8 zeigt die kumulative Häufigkeit des Auftretens der Rezidive von R1H-Tumoren in dem vorliegenden Experiment. 97% aller Rezidive traten bis Tag 145 nach Therapieende auf. Das letzte Rezidiv wurde am Tag 151 nach Ende der Therapie beobachtet.

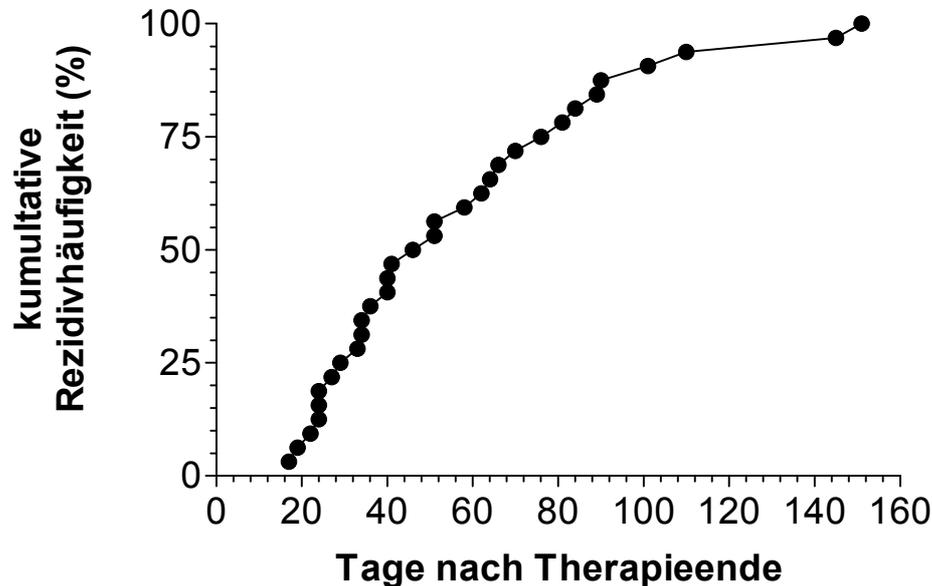


Abb. 2.8: Kumulative Häufigkeit von R1H-Rezidiven (n=32). 97% aller Lokalrezidive wurden bis Tag 145 nach der letzten Bestrahlung beobachtet. Das letzte Rezidiv trat am Tag 151 nach Abschluß der Therapie auf.

### 3. Ergebnisse

Im Rahmen des vorliegenden Experiments sollte am R1H-Tumor der Ratte der Einfluß der Dosis pro Fraktion auf die Wirkung einer postoperativer Bestrahlung untersucht und mit dem Effekt einer alleinigen Bestrahlung verglichen werden.

#### 3.1 Auswertung der Wachstumskurven

Das Wiederaufwachsen rezidivierender Tumore wurde anhand von Wachstumskurven dokumentiert. In Abbildung 3.1.1 sind die Wachstumskurven eines mit 12 Gy postoperativ sowie eines mit 69.6 Gy alleinig bestrahlten Tumors gegenübergestellt. Mit Hilfe solcher Wachstumskurven wurde für jedes Rezidiv die Wachstumsverzögerung (WVZ), die Nettowachstumsverzögerung (nWVZ) sowie der Tumor-Bett-Effekt (TBE) bestimmt. Zum Vergleich ist in Abbildung 3.1.1 die Wachstumskurve eines unbehandelten Tumors aufgezeigt.

Das Volumen des postoperativ bestrahlten Tumors wurde durch die Operation am 4. Tag vor Bestrahlungsbeginn von  $1.5 \text{ cm}^3$  auf ein Minimalvolumen von  $0.01 \text{ cm}^3$  reduziert. Dabei ist zu bemerken, dass dieses Minimalvolumen nicht mehr quantifizierbar ist, und der mit  $0.01 \text{ cm}^3$  angegebene Wert mit „0“ gleichzusetzen ist. Der Tumor wächst relativ schnell wieder auf und hat nach 5 Tagen ein Volumen von  $0.21 \text{ cm}^3$  und nach 40 Tagen sein ursprüngliches Startvolumen erreicht. Am 5. bzw. 8. Tag nach Tumorentfernung entwickelte sich ein Ödem im Operationsgebiet. Dadurch wurde ein fälschlicherweise zu grosses Tumolvolumen bestimmt. Die Wachstumskurve weist an dieser Stelle entsprechende Schwankungen auf.

Im Fall der alleinigen Strahlentherapie nimmt das Tumolvolumen zunächst in der ersten Bestrahlungswoche noch zu und schrumpft dann kontinuierlich. Zwischen dem 60. und 70. Tag nach Bestrahlungsbeginn wird ein Minimalvolumen von  $0.1 \text{ cm}^3$  erreicht. Das anschließende Wiederaufwachsen des Tumors verläuft langsamer als bei der postoperativen Bestrahlungskurve.

Bei den unbehandelten Tumoren verläuft das anfänglich schnelle Wachstum exponentiell. Mit zunehmendem Volumen verringert sich die Wachstumsgeschwindigkeit kontinuierlich und führt somit zur Krümmung der Wachstumskurve. Diese kann mathematisch mit der sogenannten Gompertz-Funktion beschrieben werden (Steel 1977):

$$N(t) = N_0 \times e^{\left\{ \frac{a}{b} \left[ 1 - e^{-b \times t} \right] \right\}} \quad [\text{Gleichung 15}]$$

Sie beschreibt in Abhängigkeit von der Zeit die Zellzahl eines Tumors bei einer gegebenen Ausgangszellzahl  $N_0$ .

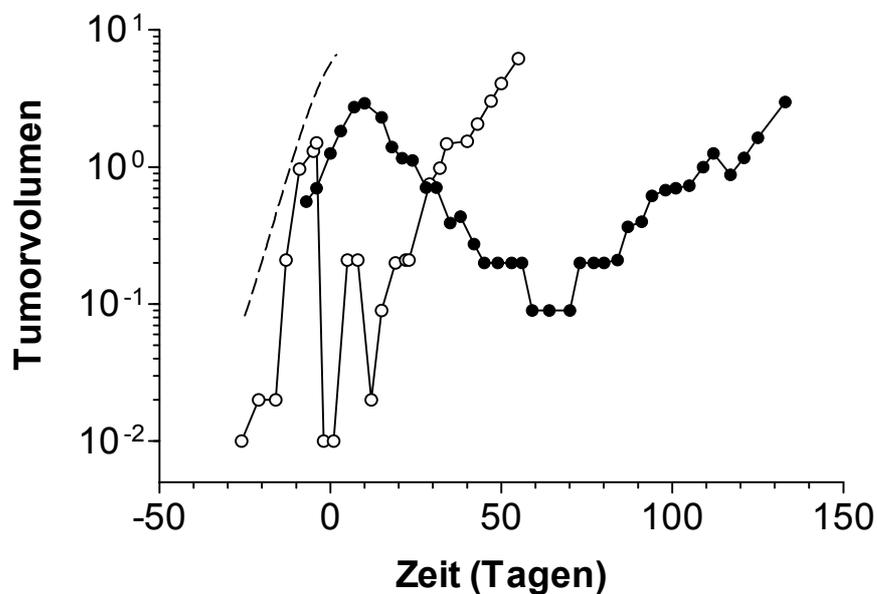


Abb. 3.1.1: Gegenüberstellung der Wachstumskurven eines postoperativ (○) und alleinig (●) bestrahlten Tumors. Zum Vergleich ist die Wachstumskurve eines unbehandelten Tumors (gestrichelte Linie) mit aufgetragen. Das Tumolvolumen ist auf einer halblogarithmischen Skala gegen die Zeit nach Therapiebeginn (Tag 0) aufgetragen.

Abbildung 3.1.2 vergleicht die Wachstumsverzögerung nach alleiniger bzw. postoperativer Strahlentherapie. Postoperativ applizierte Gesamtdosen von 7.2, 12.0, 24.0, 36.0 und 48.0 Gy bewirken eine mediane Wachstumsverzögerung von 29, 51, 71.5, 85 bzw. 129 Tagen. Nach chirurgischer Tumorresektion ohne nachfolgende Bestrahlung beträgt die mediane

Wachstumsverzögerung 27 Tage. Eine Angabe der 95%-Vertrauensbereiche ist aufgrund der geringen Anzahl von Beobachtungen nicht möglich. Zum Teil handelt es sich um Einzelbeobachtungen (7.2, 36.0 und 48.0 Gy). Nach alleiniger Bestrahlung mit Gesamtdosen von 40.8, 62.4, 69.6 bzw. 76.8 Gy wird eine mediane Wachstumsverzögerung von 44, 99, 113 bzw. 97 Tagen beobachtet. Auch in diesem Fall lassen sich keine 95%-Vertrauensbereiche bestimmen. Zum Teil handelt es sich auch hier um Einzelbeobachtungen (76.8 Gy). In den Dosisgruppen mit 60.0 und 84.0 Gy kann keine Wachstumsverzögerung bestimmt werden, da in diesen Dosisgruppen keine Rezidive beobachtet wurden. In der Dosisgruppe mit 91.2 Gy ließ sich die Wachstumsverzögerung aus dem vorhandenen Datenmaterial nicht ermitteln, da das Tier mit dem rezidivierenden Tumor vor Erreichen des doppelten Startvolumens aus dem Versuch genommen werden musste. Der Verlauf der gezeigten Kurven wird bei Gesamtdosen von 7.2, 36.0, 48.0 und 76.8 Gy nur von einem Wert gebildet, da bei diesen Gesamtdosen nur ein Tumor rezidierte.

An beiden Datensätzen lässt sich eine Zunahme der Wachstumsverzögerung mit steigender Gesamtdosis beobachten, d.h. je höher die Bestrahlungsdosis wird, desto länger dauert es, bis der rezidivierende Tumor das doppelte Startvolumen erreicht hat.

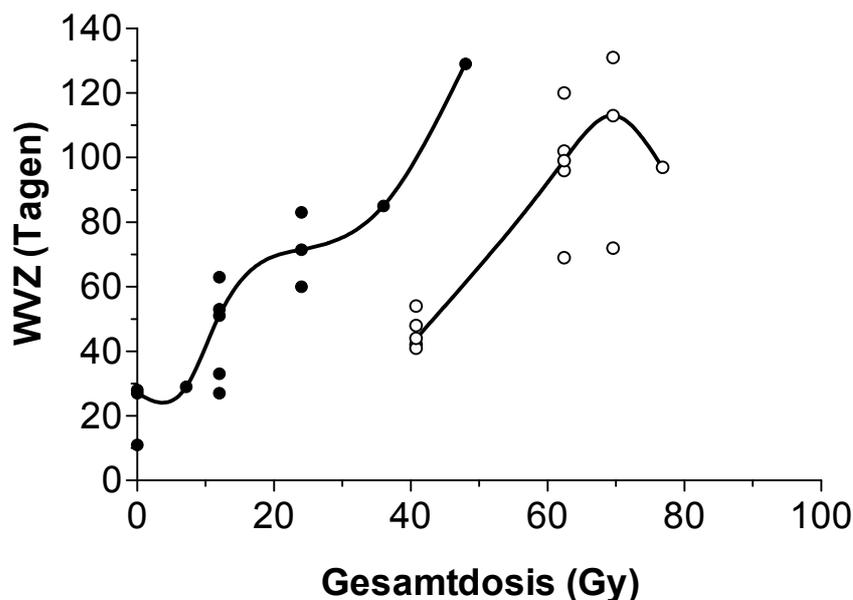


Abb. 3.1.2: Wachstumsverzögerung rezidivierender Tumore nach alleiniger (O) und postoperativer (●) Strahlentherapie. Aufgetragen ist die Wachstumsverzögerung als Funktion der Gesamtdosis.

In Abbildung 3.1.3 ist der Zusammenhang zwischen der Nettowachstumsverzögerung und der applizierten Gesamtdosis dargestellt. Postoperativ applizierte Dosen von 7.2, 12.0, 24.0, 36.0 und 48.0 Gy bewirken mediane Nettowachstumsverzögerungen von 24, 28, 34, 64 bzw. 121 Tagen. Nach chirurgischer Tumorresektion ohne nachfolgende Bestrahlung beträgt die mediane Nettowachstumsverzögerung 22 Tage. Eine Angabe der 95%-Vertrauensbereiche ist aufgrund der geringen Anzahl von Beobachtungen nicht möglich. Zum Teil handelt es sich um Einzelbeobachtungen (36.0 und 48.0 Gy). Nach alleiniger Bestrahlung mit Gesamtdosen von 40.8, 62.4, 69.6, 76.8 bzw. 91.2 Gy wird eine mediane Nettowachstumsverzögerung von 43, 70, 77, 74 und 114 Tagen beobachtet. Auch in diesem Fall lassen sich keine 95%-Vertrauensbereiche bestimmen. Zum Teil handelt es sich um Einzelbeobachtungen (94.2 Gy). In den Dosisgruppen mit 60.0 und 84.0 Gy konnte keine Nettowachstumsverzögerung ermittelt werden, da in diesen Dosisgruppen keine Rezidive gebildet wurden. Der Verlauf der Kurven ergibt sich bei Gesamtdosen von 36.0 und 48.0 bzw. 94.2 Gy aus Einzelwerten, da bei diesen Gesamtdosen jeweils nur ein Rezidiv zu beobachten war.

Analog zu den Ergebnissen der Wachstumsverzögerung (siehe Abbildung 3.1.2) lässt sich eine Zunahme der Nettowachstumsverzögerung mit steigender Gesamtdosis beobachten.

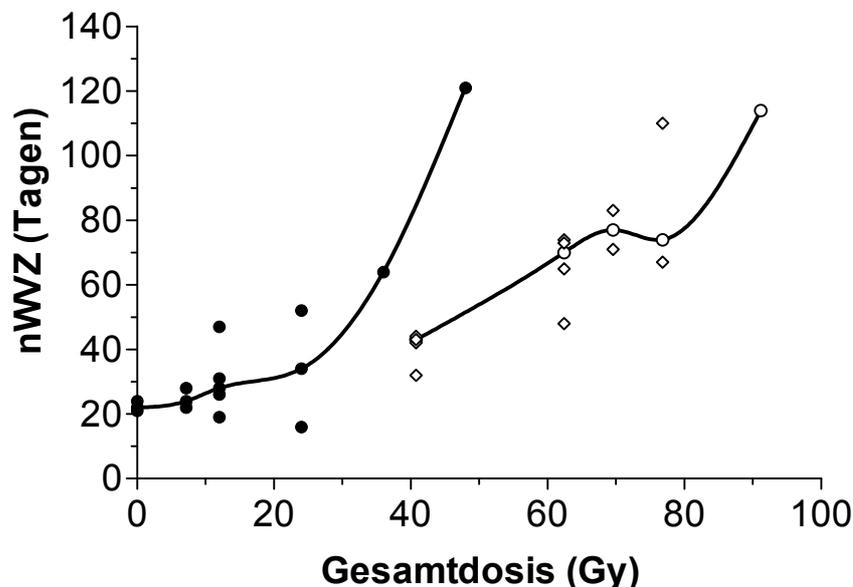


Abb. 3.1.3: Nettowachstumsverzögerung rezidivierender Tumore nach alleiniger (○) sowie postoperativer (●) Bestrahlung. Aufgetragen ist die Nettowachstumsverzögerung als Funktion der Gesamtdosis.

Abbildung 3.1.4 beschreibt den Zusammenhang zwischen dem Tumor-Bett-Effekt und der applizierten Gesamtdosis für die untersuchten Therapiearme. Postoperativ applizierte Gesamtdosen von 7.2, 12.0, 24.0, 36.0 bzw. 48.0 Gy bewirken einen medianen Tumor-Bett-Effekt von 5, 16, 37.5, 21 bzw. 8 Tagen. Nach chirurgischer Tumorresektion ohne nachfolgende Bestrahlung beträgt der mediane Tumor-Bett-Effekt 4.5 Tage. Eine Angabe der 95%-Vertrauensbereiche ist aufgrund der geringen Anzahl von Beobachtungen nicht möglich. Zum Teil handelt es sich um Einzelbeobachtungen (7.2, 36.0 und 48.0 Gy). Nach alleiniger Bestrahlung mit Gesamtdosen von 40.8, 62.4, 69.6 bzw. 76.8 Gy wird ein medianer Tumor-Bett-Effekt von 7, 31.5, 48 bzw. 30 Tagen beobachtet. Auch in diesem Fall lassen sich keine 95%-Vertrauensbereiche bestimmen. Zum Teil handelt es sich auch hier um Einzelbeobachtungen (76.8 Gy). In den Dosisgruppen mit 60.0, 84.0 und 91.2 Gy kann kein Tumor-Bett-Effekt bestimmt werden: In den Dosisgruppen 60.0 und 84.0 Gy wurde kein Rezidiv ausgebildet und in der Dosisgruppe 91.2 Gy konnte der Tumor-Bett-Effekt nicht ermittelt werden, da die Daten für die Wachstumsverzögerung nicht vorhanden waren (siehe 3.1.2).

Für beide Therapieformen lässt sich ein Anstieg des Tumor-Bett-Effektes mit der Gesamtdosis beobachten. Bei der postoperativen Bestrahlung ist der Maximalwert des Tumor-Bett-Effektes bei Gesamtdosen von 24.0 Gy (mit einem Medianwert von 37,5 Tagen) und bei der alleinigen Bestrahlung nach Gesamtdosen von 69.6 Gy (mit einem Medianwert von 36 Tagen) erreicht. Bei weiterer Steigerung der Gesamtdosis wäre ein Anstieg des Tumor-Bett-Effektes zu erwarten. Es lässt sich jedoch bei postoperativ applizierten Gesamtdosen von mehr als 24.0 Gy und nach alleiniger Bestrahlung mit mehr als 70.0 Gy Gesamtdosis keine definitive Aussage über den Kurvenverlauf machen, da in diesem Bereich nur Einzelbeobachtungen erfasst wurden. Diese lassen jedoch eine *Abnahme* des Tumor-Bett-Effekt mit höheren Dosen vermuten.

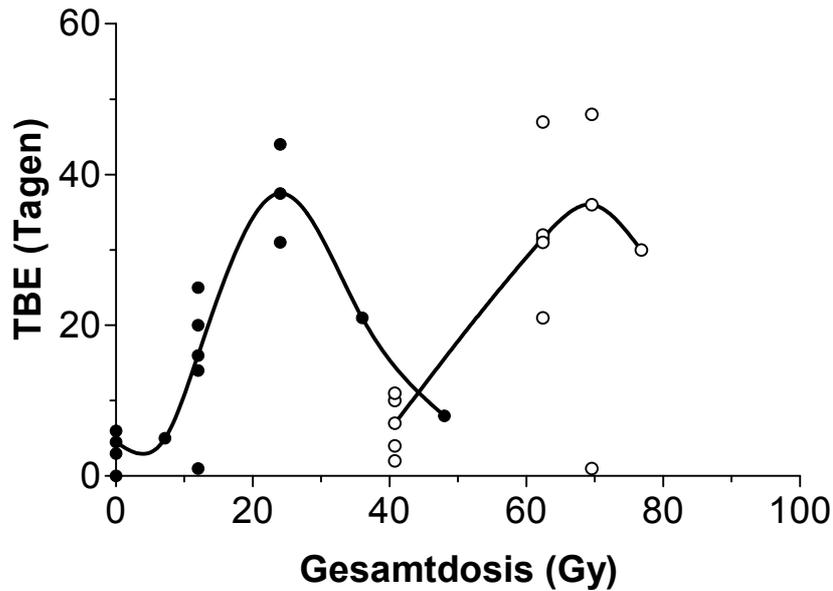


Abb. 3.1.4: Tumor-Bett-Effekt rezidivierender Tumore nach alleiniger (O) und postoperativer (●) Strahlentherapie. Aufgetragen ist der Tumor-Bett-Effekt als Funktion der Gesamtdosis.

### 3.2 Lokale Tumorkontrolle

Abbildung 3.2.1 zeigt die lokale Tumorkontrollrate nach alleiniger Bestrahlung. Die lokale Tumorkontrollrate steigt mit der Dosis an und beträgt 0%, 16.7%, 40.0%, 44.4%, 100% bzw. 83.3% nach Gesamtdosen von 40.8, 62.4, 69.6, 76.8, 84.0 bzw. 91.2 Gy. Der dargestellte Kurvenverlauf ergibt sich aus den Berechnungen der Messergebnisse mit der Maximum-Likelihood-Methode. Mit Hilfe dieser Anpassung wurde eine  $TCD_{50}$  von 72.0 Gy (95%VB: 64.0 .. 79.1 Gy) sowie eine  $N_0$  von 876 (log Likelihood -13.85) bestimmt.

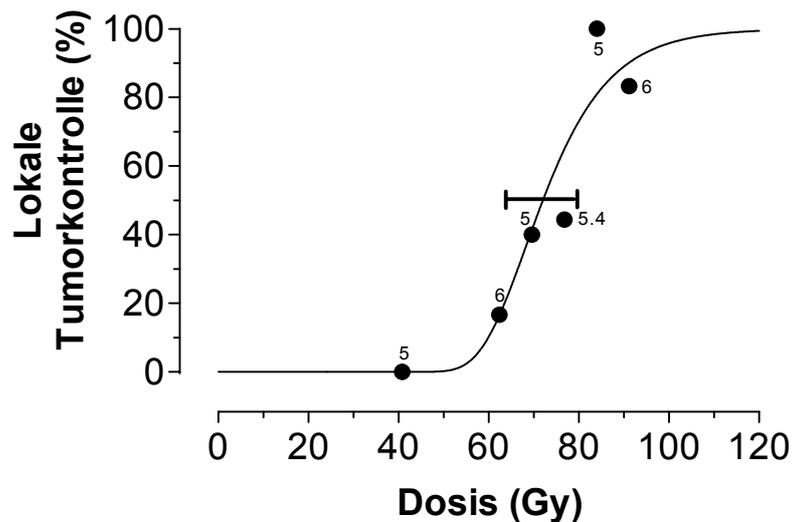


Abb. 3.2.1: Lokale Tumorkontrollrate von R1H-Tumoren nach alleiniger fraktionierter Bestrahlung. Die lokale Tumorkontrolle ist als Funktion der Dosis dargestellt. Die Kurve der Tumorkontrollwahrscheinlichkeit wurde mittels der Maximum-Likelihood-Methode berechnet. Der Fehlerbalken entspricht dem 95%-Vertrauensbereich. Zahlenwerte neben den Meßpunkten kennzeichnen die Anzahl auswertbarer Tiere pro Dosisgruppe.

In Abbildung 3.2.2 sind die Ergebnisse der lokalen Tumorkontrolle nach postoperativer Bestrahlung in Abhängigkeit von der Dosis pro Fraktion dargestellt. Aufgetragen ist der prozentuale Anteil lokal kontrollierter Tumoren als Funktion der applizierten Gesamtdosis. Die alleinige chirurgische Tumorentfernung führt zu einer relativ hohen lokalen Tumorkontrolle von 78% (waagerechte Linie). Die lokale Tumorkontrolle nach postoperativer Bestrahlung liegt zwischen 78% und 100%, wobei kein systematischer Unterschied der Effektivität der Behandlung mit Dosen von 1.2 Gy, 2.4 Gy oder 4.0 Gy pro Fraktion zu erkennen ist. Nur im Falle der Behandlung mit 1.2 Gy pro Fraktion wurden nach Gesamtdosen von 7.2 Gy bzw. 12 Gy deutlich geringere Kontrollraten von 40% bzw. 62.5% beobachtet. Diese Abweichung ist statistisch nicht signifikant verschieden (7.2 Gy:  $p=0.12$ ; 12.0 Gy:  $p=0.34$ .) von dem Kontrollwert von 78% (OP alleine).

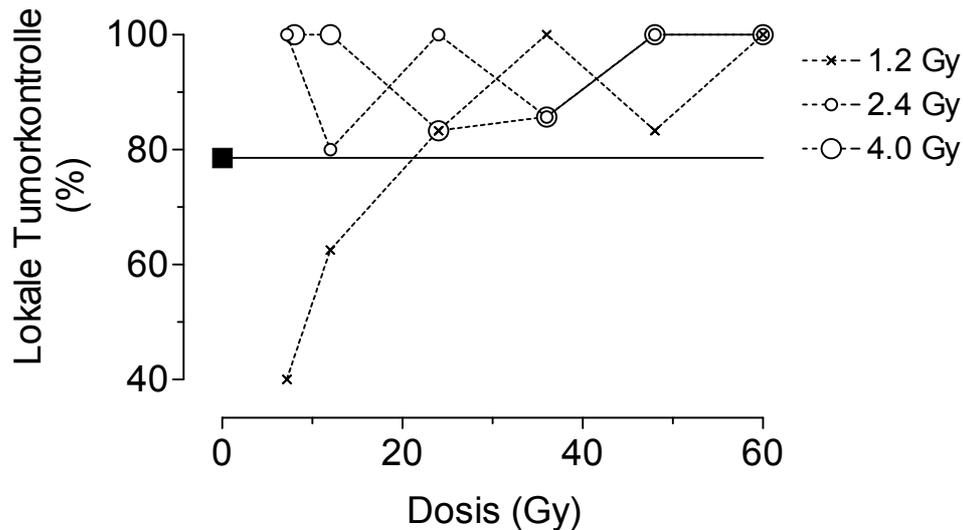


Abb. 3.2.2: Lokale Tumorkontrollrate von R1H-Tumoren nach postoperativer Bestrahlung in Abhängigkeit von der Dosis pro Fraktion. Die Einzeldosen betragen 1.2, 2.4 bzw. 4.0 Gy. Die waagerechte Linie kennzeichnet die Heilungsrate von 78% nach chirurgischer Tumorexzision.

Da ein Einfluss der Dosis pro Fraktion auf die lokale Tumorkontrolle nicht nachgewiesen werden konnte, wurden für die weitere Auswertung die Ergebnisse der einzelnen Behandlungsgruppen zusammengefasst und der Einfluss der postoperativ applizierten Gesamtdosis allgemein, d.h. ohne weitere Berücksichtigung der Dosis pro Fraktion auf die lokale Tumorkontrolle, bestimmt. Das Ergebnis der zusammengefassten Auswertung ist in Abbildung 3.2.3 dargestellt. Dort ist die lokale Tumorkontrolle nach postoperativer Bestrahlung mit Dosen von 1.2, 2.4 bzw. 4.0 Gy pro Fraktion als Funktion der applizierten Gesamtdosis aufgetragen. Insgesamt stellt sich auch für die postoperative Bestrahlung eine Zunahme der lokalen Kontrollrate mit der Gesamtdosis dar. Die Gruppen mit einer Gesamtdosis von 7.2 und 8.0 Gy wurden für diese Darstellung zusammengefasst. Nach Dosen mit 7.2 (bzw. 8.0), 12.0, 24.0, 36.0, 48.0 bzw. 60.0 Gy wurden 78.6%, 76.2%, 89.4%, 95.0%, 94.1% bzw. 100.0% der Tumoren lokal kontrolliert. Bei der chirurgischen Tumorentfernung ohne folgende Bestrahlung betrug die lokale Tumorkontrollrate 78.6%. Nach Gesamtdosen von 7.2 bzw. 8.0 oder 12.0 Gy ist keine Erhöhung der lokalen Kontrollrate messbar. Diese steigt erst bei höheren Gesamtdosen an. Zur Veranschaulichung wurde in der Darstellung die Ordinate gestreckt. Der Kurvenverlauf ergibt sich aus der Anpassung der Messergebnisse mit der Maximum-Likelihood-Methode. Dabei wurden die Werte für die  $TCD_{50}$  sowie der  $N_0$  aus der Berechnung der Dosis-Effekt-

Beziehung nach alleiniger Bestrahlung (Abbildung 3.2.2) übernommen. Als Variablen wurden der Effekt der Chirurgie (Reduktionsfaktor für den Anteil der klonogenen Tumorzellen) sowie dessen Variabilität (log-normal Verteilung) zugelassen. Die Anpassung ergab einen Faktor für die Chirurgie von  $9.3 \times 10^{-5}$  (95% VB:  $1.5 \times 10^{-5}$  ..  $4.5 \times 10^{-4}$ ) und eine Variabilität von 3.1 (95%VB: 1.45 .. 3.8).

Da durch die Operation alleine schon ein relativ hoher Anteil der Tumoren lokal kontrolliert wurde (78%), entsteht methodisch das Problem, dass eine weitere Zunahme der Behandlungseffektivität durch die angeschlossene postoperative Bestrahlung nur im Bereich zwischen 80% und 100% möglich ist. Dies bedeutet eine maßgebliche Einschränkung dieses Experiments.

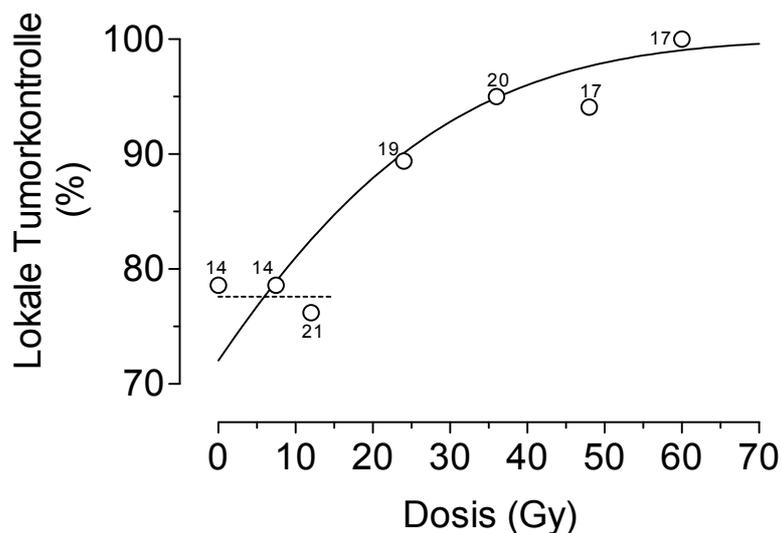


Abb. 3.2.3: Lokale Tumorkontrollrate von R1H-Tumoren nach postoperativer Strahlentherapie. Die Kurve der Tumorkontrollwahrscheinlichkeit wurde mittels der Maximum-Likelihood-Methode berechnet. Die Zahlenwerte neben den Messpunkten kennzeichnen die Anzahl auswertbarer Tiere pro Dosisgruppe. Die Anpassung ergab einen Faktor für die Chirurgie von  $9.3 \times 10^{-5}$  (95% VB:  $1.5 \times 10^{-5}$  ..  $4.5 \times 10^{-4}$ ) und eine Variabilität von 3.1 (95%VB: 1.45 .. 3.8).

In Abbildung 3.2.4 sind die Ergebnisse der alleinigen sowie der postoperativen Strahlentherapie gegenübergestellt. Während die Dosis-Wirkungsbeziehung nach alleiniger Bestrahlung einen steilen Anstieg im Dosisbereich von 40 bis 100 Gy aufweist, verläuft diese bei postoperativer Therapie signifikant flacher ( $p=0,003$ ; likelihood-ratio-

test) und ist extrem zu kleineren Dosen hin verschoben. So wird mit 40 Gy allein in keinem Fall eine lokale Tumorkontrolle erreicht, während diese Dosis postoperativ appliziert zu nahezu hundertprozentiger Kontrolle führt.

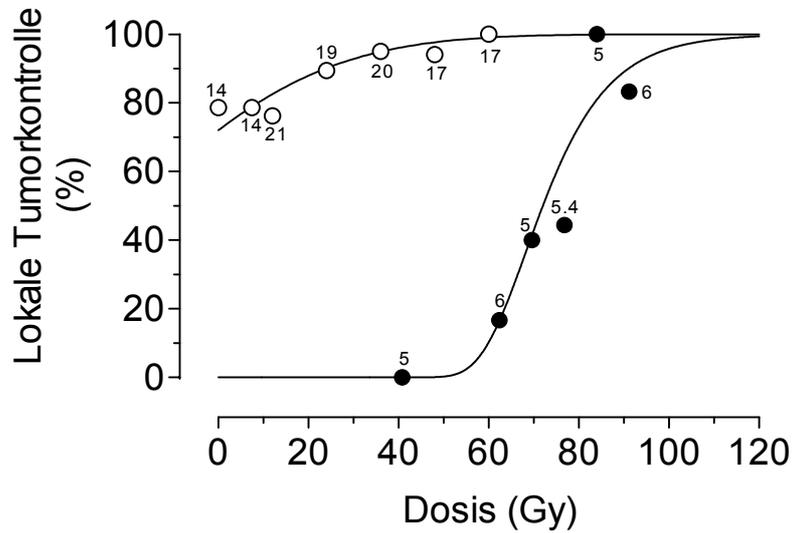


Abb. 3.2.4: Gegenüberstellung der lokalen Tumorkontrollraten von R1H-Tumoren nach alleiniger (●) und postoperativer (O) Bestrahlung. Die Kurven wurden mittels der Maximum-Likelihood-Methode ermittelt. Die Zahlenwerte neben den Messpunkten kennzeichnen die Anzahl auswertbarer Tiere pro Dosisgruppe.

## 4. Diskussion

### 4.1 Fragestellung

Das ursprüngliche Ziel dieser Arbeit war die Bestimmung des Einflusses der Dosis pro Fraktion bei der postoperativen Tumorbestrahlung. Das experimentelle Design bestand aus einer fraktionierten Bestrahlung eines geeigneten Experimentaltumors, wobei der Therapieerfolg der Behandlung mit Hilfe der Endpunkte „lokale Tumorkontrolle“ und „Wachstumsverzögerung“ quantifiziert wurde. Im Rahmen der verwendeten Fraktionierungsschemata wurde am vierten Tag nach chirurgischer Tumorentfernung mit einer fraktionierten Bestrahlung begonnen, wobei Gesamtdosen von 7.2 Gy bis 60.0 Gy perkutan in Fraktionen von 1.2, 2.4, bzw. 4.0 Gy auf das Operationsgebiet verabreicht wurden. Die postoperative Bestrahlung wurde mit dem Effekt einer alleinigen Bestrahlung verglichen, in deren Rahmen Gesamtdosen von 40.8 bis 91.2 Gy unter Verwendung von 2.4 Gy pro Fraktion, verabreicht wurden.

### 4.2 Methodische Diskussion

Wie in Abbildung 3.2.2 dargestellt, konnte kein Einfluß der Dosis pro Fraktion auf das Behandlungsergebnis der postoperativen Bestrahlung nachgewiesen werden. Als Grund dafür ist die sehr hohe Kontrollrate nach alleiniger Operation von 78% anzusehen. Für den Nachweis einer weiteren Steigerung der lokalen Kontrolle durch postoperative Bestrahlung wäre eine deutlich größere Tierzahl notwendig gewesen. Aufgrund dieses unerwarteten Ergebnisses musste auf die Interpretation der Ergebnisse im Sinne der ursprünglichen Fragestellung verzichtet werden. Statt dessen war ein genereller Vergleich zwischen dem Effekt einer postoperativen und einer alleinigen Strahlentherapie möglich.

Die Heilungsrate nach chirurgischer Tumorentfernung war mit 78% unerwartet hoch. Im Rahmen eines früheren Experimentes am R1H-Tumor wurde die Rezidivrate nach Tumorexzision in Abhängigkeit der Tumorgröße bestimmt (Carl, 1997). Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Abbildung 4.1 dargestellt, in der die Rezidivrate nach

Tumorexzision in Abhängigkeit des Tumorgewichtes aufgetragen ist. Es wurden für 0.2 bis 5.0 g schwere Tumoren eine Volumen-Effekt-Beziehung beschrieben. Hierbei steigt die Rezidivrate von 0% auf 100% an. Anhand dieser Ergebnisse war für R1H-Tumoren mit einem Gewicht von etwa 1 g eine Rezidivrate von 50% zu erwarten (Carl, 1997).

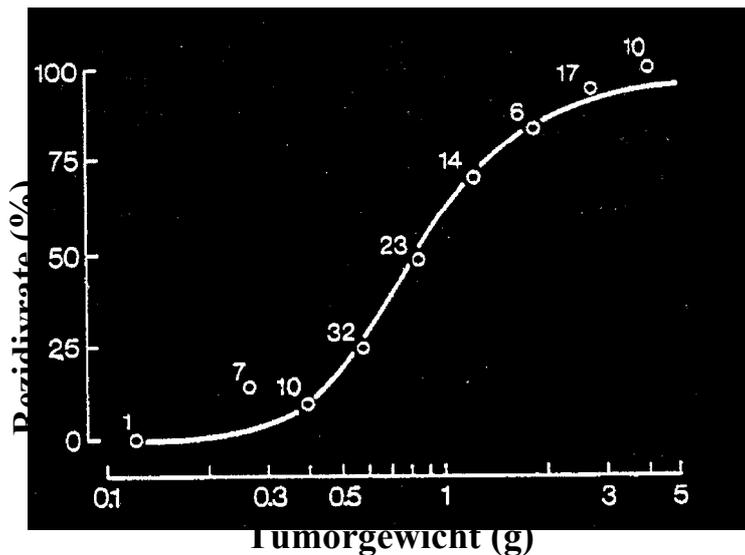


Abb. 4.1: Rezidivrate des R1H-Tumors nach chirurgischer Exzision in Abhängigkeit der Tumormasse. Nach diesen Ergebnissen von Carl et al. (1997) war für R1H-Tumoren mit einem Gewicht von 1g eine Rezidivrate von etwa 50% zu erwarten.

Wodurch die unerwartet hohe Heilungsrate durch die Operation in der vorliegenden Untersuchung bedingt ist, ist schlussendlich nicht zu klären. Erklärungsmöglichkeiten sind zum einen die zunehmende Übung des Operateurs und damit verbunden eine immer besser werdende „Qualität“ des Eingriffs. Zum anderen besteht auch die Möglichkeit, dass die Methodik der Tumolvolumenbestimmung oder der Tumorexzision in der oben erwähnten Untersuchung nicht mit der vorliegenden Untersuchung vergleichbar ist, da andere Personen daran beteiligt waren und individuelle Unterschiede in der Tumolvolumenbestimmung oder Operationstechnik bestehen könnten.

Prinzipiell gilt, je größer der Tumor bei der Operation, bzw. je unvollständiger die Tumorsektion ist, desto höher ist die Rezidiv-Wahrscheinlichkeit. Die Auswertung der OP-Protokolle in Bezug auf den Resektionsgrad ergab eine Verteilung von 86.3% R0-,

9.4% R1- und 4.3% R2-Resektion. Der relative hohe Anteil an R0-Resektionen weist darauf hin, dass überwiegend eine vollständige Tumorexzision durchgeführt wurde.

Sollten weitere Untersuchungen zu der Fragestellung der postoperativen Strahlenbehandlung am R1H-Tumor durchgeführt werden, ist es unbedingt notwendig zunächst die optimale Tumorgröße zu bestimmen, bei der die Rezidivrate deutlich über 50% beträgt. Da auch das Metastasierungsrisiko mit dem Startvolumen zunimmt, muss zunächst experimentell das optimale Startvolumen ermittelt werden, bei dem die Rezidivrate so hoch wie möglich und das Metastasierungsrisiko so gering wie möglich ist.

### 4.3 Diskussion der Endpunkte

Im Rahmen dieser Arbeit wurden als Endpunkte die lokale Tumorkontrolle sowie Parameter der Wachstumskinetik der rezidivierenden Tumoren (Wachstumsverzögerung, Nettowachstumsverzögerung und Tumor-Bett-Effekt) bestimmt.

Eine lokale Kontrolle wird erreicht, wenn die letzte klonogene Tumorzelle durch die Behandlung inaktiviert wird, d.h. entweder ist der Tumor lokal kontrolliert oder nicht. Dieses kann eindeutig bestimmt werden. Die Volumenbestimmung des Rezidivs hingegen, ist mit einem Messfehler behaftet; darüber hinaus besteht eine größere biologische Variabilität im Wachstumsverhalten von rezidivierenden Tumoren. Somit sind die Ergebnisse der Wachstumsverzögerung generell schwierig zu interpretieren. Bei der vorliegenden Untersuchung kommt hinzu, dass nur wenige Beobachtungen für die Auswertung zur Verfügung standen, da nur wenige Rezidive beobachtet und vermessen werden konnten.

Generell ist ein Anstieg der Wachstumsverzögerung bzw. der Nettowachstumsverzögerung mit der Gesamtdosis zu beobachten. Frühere Arbeiten am R1H-Tumor zeigen einen linearen Anstieg der WVZ bzw. der nWVZ mit der Dosis (Zieron, 1996). Ein linearer Anstieg der nWVZ wäre durch die Verringerung der überlebenden Tumorzellen in Abhängigkeit von der Gesamtdosis und der Wachstumskinetik des Tumors erklärbar. Die Zahl der überlebenden Zellen nimmt exponentiell mit der Dosis ab. In erster Näherung

liegt bei kleinen Tumolvolumina des R1H-Tumors exponentielles Wachstum vor. Somit ist die Zeit, die der Tumor benötigt, um nach einer Bestrahlung wieder zum Ausgangsvolumen aufzuwachsen, proportional zum Logarithmus der überlebenden Zellen. Da sich dieser wiederum proportional zur Dosis verhält, scheint ein linearer Zusammenhang zwischen Gesamtdosis und Nettowachstumsverzögerung plausibel. Grundlage für diese Vorstellung ist, dass alle Tumoren eine vergleichbare Wachstumskinetik aufweisen. Diese kann somit nur begrenzt für den Zusammenhang von Wachstumsverzögerung und Gesamtdosis gelten, da in diesem Fall der Tumor-Bett-Effekt mit betrachtet wird. Dass ein solcher linearer Anstieg bei dem vorliegenden Experiment nicht nachweisbar ist, liegt möglicherweise an der begrenzten Anzahl der auswertbaren Rezidive.

## 4.4 Diskussion der Ergebnisse

### 4.4.1 Wachstumskurven

In Abbildung 3.1.1 sind die Wachstumskurven eines postoperativ und eines standardbestrahlten Tumors gegenübergestellt. Das Tumolvolumen eines unbehandelten Tumors nimmt anfangs exponentiell zu. Mit zunehmender Tumorgröße wird das Wachstum exponentiell gebremst. Das Tumorstadium entspricht somit einer Gompertz-Funktion. Bis zum Beginn der Behandlung weisen die Tumoren der postoperativen bzw. alleinig bestrahlten Versuchsreihe diesen Wachstumsverlauf auf, doch im weiteren zeitlichen Verlauf prägen sich deutliche Unterschiede aus:

Bei der Wachstumskurve des nur bestrahlten Versuchstiers ist festzustellen, dass nach Bestrahlungsbeginn das Tumorstadium zunächst noch zunimmt, bis es am zehnten Tag nach Bestrahlungsbeginn sein Maximum erreicht. Vom elften Tag an beginnt der Tumor mit annähernd konstanter Rate zu schrumpfen. Nach Beendigung der Bestrahlung nimmt das Tumorstadium noch ca. 3 Tage weiter ab und bleibt dann für ca. 11 Tage auf diesem Niveau. In der Zeit vom 56. bis zum 59. Tag nimmt das Tumorstadium noch einmal ab. Ab dem 80. Tag erfolgt ein erneutes Aufwachsen des Tumors. Dieser zweite Anstieg der Volumenkurve erfolgt nahezu parallel zum ersten Aufwachsen. Ab dem 94. Tag tritt der

Tumor dann in eine ca. 11 Tage dauernde stationäre Phase ein. Danach wächst er deutlich verlangsamt weiter.

Bei der postoperativen Wachstumskurve kommt es am Tag des Behandlungsbeginns durch die Operation – vorübergehend - zu einem totalen Verschwinden des Tumors für einige Tage. Postoperative Ödembildung erschwert in diesem Bereich die genaue Bestimmung der Tumorgröße. Das Versuchstier erhielt über 5 Tage eine Bestrahlung mit 1.2 Gy pro Fraktion. Ab dem 12.Tag nach Bestrahlungsbeginn wächst der Tumor erneut auf. Im Vergleich zur Wachstumskurve des alleinig bestrahlten Tumors ist das Aufwachsen des Rezidives bei der postoperativen Bestrahlung deutlich schneller. Ein Verweilen in einer stationären Phase, wie es bei der Wachstumskurve der alleinigen Bestrahlung beobachtet wurde, scheint zu fehlen.

#### 4.4.2 Aus den Wachstumskurven abgeleitete Parameter

##### 4.4.2.1 Wachstumsverzögerung

Die Auswertung der Wachstumskurven der rezidivierenden Tumore zeigt, dass im Falle einer postoperativen Therapie eine geringere Gesamtdosis notwendig ist, um die mit alleiniger Strahlentherapie erreichte Wachstumsverzögerung bzw. Nettowachstumsverzögerung zu erzielen (siehe Abbildung 3.1.2 und 3.1.3). Der horizontale Abstand der Kurven in den Abbildungen 3.1.2 und 3.1.3 kann als Differenz der benötigten Dosis zwischen postoperativer und alleiniger Strahlentherapie interpretiert werden, um die gleiche Wachstumsverzögerung bzw. Nettowachstumsverzögerung zu erreichen. Es ergibt sich beispielsweise für die Nettowachstumsverzögerung, dass im Falle einer postoperativen Bestrahlung eine Gesamtdosis von 36 Gy zu einer medianen Wachstumsverzögerung von 64 Tagen führt, hingegen bei alleiniger Bestrahlung für einen vergleichbaren Effekt Gesamtdosen von 58 Gy benötigt werden. Demgegenüber beschreibt der vertikale Abstand der Kurven in Abbildung 3.1.2 und 3.1.3 den Unterschied in der Wachstumsverzögerung bzw. Nettowachstumsverzögerung bei gleicher Gesamtdosis. Die mit der gleichen Dosis erreichte Wachstumsverzögerung bzw. Nettowachstumsverzögerung ist bei der postoperativen Therapie größer als bei der alleinigen Bestrahlung. So erzielt man bei postoperativer Applikation von 40.0 Gy eine

Nettowachstumsverzögerung von 83 Tagen, während bei alleiniger Strahlentherapie das Wiederaufwachsen des Tumors um nur 44 Tage verzögert wird.

In Abbildung 4.2 ist der Zusammenhang zwischen Nettowachstumsverzögerung pro Dosis und der applizierten Gesamtdosis dargestellt.

Während die Nettowachstumsverzögerung pro Dosis nach alleiniger Bestrahlung (offene Kreise) sich von der Gesamtdosis unabhängig zeigt und im Median 1,07 d/Gy beträgt (gestrichelte Linie), nimmt sie nach postoperativer Bestrahlung von initialen Werten zwischen drei und vier mit der Dosis rasch ab (geschlossene Kreise). Nimmt man an, dass sowohl die chirurgische Tumorentfernung wie auch die postoperative Bestrahlung unabhängig voneinander eine Nettowachstumsverzögerung bewirken, so setzt sich die nWVZ nach kombinierter Behandlung aus diesen beiden Komponenten wie folgt zusammen:

Effekt der kombinierten Behandlung = Effekt der OP alleine + Effekt der Bestrahlung  
[Gleichung 16]

Aus der Abbildung 3.1.3 kann der Wert für die mediane Nettowachstumsverzögerung der ausschließlich operierten Tiere von 22 Tagen hinzugezogen werden. Daraus folgt:

$$\text{nWVZ (OP+RT)} = 22 \text{ Tage} + 1,07 \text{ d/Gy} \times D \quad [\text{Gleichung 17}]$$

wobei D die postoperative Gesamtdosis ist. Nach Division durch D ergibt sich:

$$\frac{\text{nWVZ}}{D} = \frac{22\text{d} + 1,07\text{d/Gy} \times D}{D} \quad [\text{Gleichung 18}]$$

Die durchgezogene Linie in Abbildung 4.2 zeigt den Verlauf dieser Kurve, der sehr gut mit den gemessenen Ergebnissen übereinstimmt (geschlossene Kreise). Der Effekt der alleinigen Bestrahlung ist konstant. Wie in bisherigen Untersuchungen (Würschmidt et al., 1991, 1992; Beck-Bornholdt et al., 1989) beträgt die nWVZ etwa einen Tag pro Gy. Bei der postoperativen Bestrahlung ist die nWVZ pro Gy für geringere Gesamtdosen deutlich

höher und nimmt mit der Dosis ab. D.h. je höher die Gesamtdosis, desto geringer ist der Effekt der Operation auf die Nettowachstumsverzögerung.

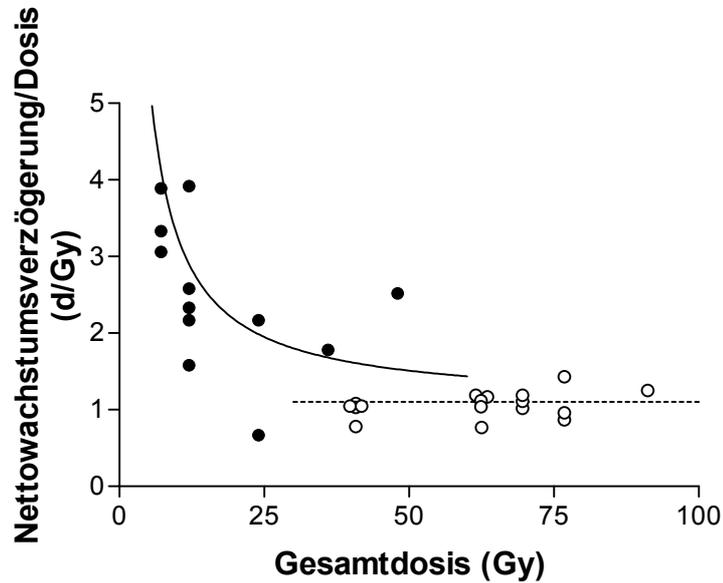


Abb. 4.2: nWVZ pro Dosis in Abhängigkeit von der postoperativ (●) bzw. standard-applizierten (○) Gesamtdosis. Die eingezeichnete Kurve ergibt sich aus Gleichung 18. Die gestrichelte waagerechte Linie beschreibt die nWVZ pro Dosis nach alleiniger Bestrahlung.

Das vorliegende Datenmaterial kann dazu verwandt werden, die Dosisersparnis bei Anwendung einer postoperativen Bestrahlung im Vergleich zur alleinigen Strahlentherapie zu quantifizieren:

Wie oben erwähnt, weisen die nur operierten Tiere eine mediane nWVZ von 22 Tagen (Abbildung 3.1.3) und die alleinig bestrahlten Versuchstiere eine nWVZ pro Dosis von 1,07 Tagen pro Gy (Abbildung 4.1) auf. Daraus lässt sich ableiten, dass die Operation einer Bestrahlungsdosis von  $22 / 1,07 = 20$  Gy entspricht, vorausgesetzt die Dosis wird fraktioniert appliziert.

#### 4.4.2.2 Tumor-Bett-Effekt

Im vorliegenden Experiment konnte ein Tumor-Bett-Effekt in den Wachstumskurven der Rezidive beobachtet werden. Dieser korreliert mit der Gesamtdosis (Abb. 3.1.4). Der Tumor-Bett-Effekt ist auf eine Schädigung des tumorennährenden Gefäßnetzes durch die Behandlung zurückzuführen. Dadurch kommt es zu einer typischen Verzögerung der Wachstumskinetik, die meist zu dem Zeitpunkt zu beobachten ist, an dem das Rezidiv das Startvolumen wieder erreicht. Generell konnte in beiden Behandlungsarmen eine Dosisabhängigkeit des Tumor-Bett-Effektes beobachtet werden. Bei der alleinigen Strahlentherapie wurde erwartungsgemäß ein Anstieg des Tumor-Bett-Effektes mit der Dosis beobachtet. Bei der postoperativen Strahlentherapie deutet sich nach einem anfänglichen Anstieg des Tumor-Bett-Effektes bei Gesamtdosen von 0 bis 24 Gy eine Abnahme des Tumor-Bett-Effektes im Dosisbereich ab 36 Gy an. Möglicherweise rezidivieren postoperativ bestrahlte Tumoren nach Applikation höherer Dosen schneller als nach niedrigen Gesamtdosen. Dies könnte durch Veränderungen im Tumorstroma durch den chirurgischen Eingriff bewirkt werden. Da aber in dem hohen Dosisbereich sowohl der alleinigen als auch der postoperativen Strahlentherapie nur einzelne Datenpunkte vorliegen, kann dies nur als Spekulation verstanden werden.

### 4.5 Diskussion der Heilungsergebnisse

#### 4.5.1 Vergleich der postoperativen und alleinigen Bestrahlung

Da die chirurgische Tumorentfernung im vorliegenden Experiment in 78% der Fälle zur lokalen Tumorkontrolle führte, kann durch die postoperative Bestrahlung diese schon sehr hohe lokale Kontrollrate nur noch geringfügig erhöht werden. Zum statistisch signifikanten Nachweis eines geringen Unterschieds zwischen zwei Gruppen sind wesentlich mehr Einzelbeobachtungen notwendig als zur Erfassung eines ausgeprägten Unterschieds. Aus diesem Grund lassen sich die Ergebnisse bezüglich des Einflusses der Dosis pro Fraktion auf den Behandlungseffekt nicht statistisch sinnvoll auswerten, so dass

keine diesbezüglichen Schlussfolgerungen möglich sind. Auffällig niedrig sind die lokalen Kontrollraten nach Behandlung mit Gesamtdosen von 7.2 (bzw.8) und 12 Gy unter Verwendung von 1.2 Gy pro Fraktion. In diesen Gruppen wurden lokale Kontrollraten von 40.0% bzw. 62.5% bestimmt, d.h. in diesem Falle führte die postoperative Bestrahlung zu einer *geringeren* lokalen Kontrollrate als die alleinige chirurgische Tumorentfernung. Ob es sich hierbei um einen tatsächlichen oder zufälligen Zusammenhang handelt, kann aufgrund der geringen Tierzahl pro Gruppe statistisch nicht belegt werden. So muß dieser Befund als zufällig, d.h. ohne eindeutigen, zugrundeliegenden Wirkmechanismus interpretiert werden.

Wie eingangs schon erwähnt, konnte kein Effekt der Dosis pro Fraktion auf die lokale Tumorkontrolle nach postoperativer Strahlentherapie nachgewiesen werden (Abb. 3.2.2). Somit war nur eine generelle Erfassung der lokalen Kontrollrate nach postoperativer Strahlentherapie, unabhängig von der verwendeten Fraktionierung, möglich. Diese nimmt sowohl nach alleiniger wie auch nach postoperativer Strahlentherapie mit der Gesamtdosis zu. Während die Dosis-Effekt-Kurve nach alleiniger Behandlung eine typische sigmoide Form aufweist, verläuft die der postoperativen Bestrahlung signifikant flacher und ist nach links, d.h. zu kleineren Dosen hin, verschoben.

Bahnsen et al. (1998) haben ebenfalls eine Abflachung und Linksverschiebung der Dosis-Wirkungsbeziehung nach postoperativer Bestrahlung für den R1H-Tumor beschrieben. Da aber in der genannten Untersuchung Gesamtdosen von mindestens 40 Gy postoperativ appliziert wurden, konnte die Abflachung der Dosis-Effekt-Kurve nicht für den Bereich niedriger Gesamtdosen belegt werden. Die vorliegende Untersuchung kann somit die Ergebnisse von Bahnsen et al. erweitern und unterstützen. In Abbildung 4.3 sind die Ergebnisse beider Untersuchungen zur postoperativen Strahlentherapie des R1H-Tumors vergleichend dargestellt.

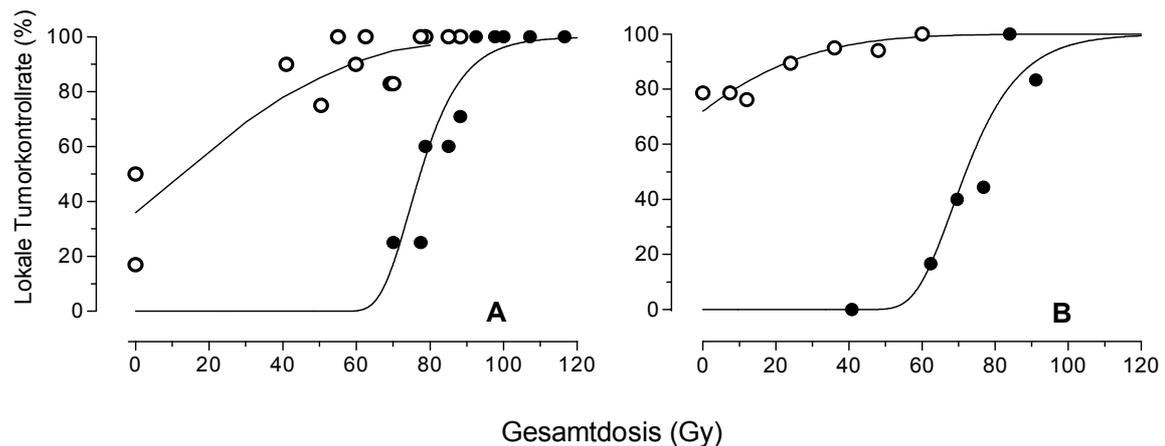


Abb. 4.3: Vergleich lokaler Tumorkontrollraten der vorliegenden Untersuchung (B) mit Ergebnissen einer früheren Untersuchung (A)

Bei einer alleinigen Strahlentherapie mit weniger als 60 Gy kann keine lokale Tumorkontrolle erzielt werden, bei höheren Gesamtdosen kommt es zum steilen Anstieg der Kontrollwahrscheinlichkeit. Nach Gesamtdosen von 100 Gy nähert sich die Kurve einer lokalen Kontrolle von 100% an. Die Dosis-Effekt-Kurven der alleinigen Bestrahlung sind zum einen durch eine Schwellendosis und zum anderen durch ihren steilen Anstieg im Dosisbereich von 60 bis 80 Gy charakterisiert. Die Dosis-Effekt-Kurven der postoperativen Strahlentherapie hingegen zeigen demgegenüber generelle Unterschiede. Während Bahnsen et al. nach Gesamtdosen von 40 Gy bis 100 Gy lokale Tumorkontrollraten von 35% bis 100% bestimmten, betragen diese im vorliegenden Experiment nach Applikation von 7.2 Gy bis 60 Gy zwischen 76,2% bis 100%. In beiden Experimenten wurde eine Abflachung und Linksverschiebung der postoperativen Dosis-Wirkungsbeziehung beobachtet.

Auch in klinischen Studien konnte ein ähnlicher Effekt kleiner postoperativ applizierter Gesamtdosen festgestellt werden. So untersuchten Feigen et al. (1988) 97 Patienten, die wegen Rektumkarzinomen mit postoperativ applizierten Gesamtdosen von 24 Gy (gegeben in 12 Fraktionen) bzw. 25 Gy (gegeben in 10 Fraktionen über 2 Wochen) behandelt wurden. Sie konnten zeigen, dass die Gabe dieser geringeren Gesamtdosen uneffektiv auf die lokale Tumorkontrolle war.

Diese charakteristischen Unterschiede lassen sich wie folgt erklären:

Generell gilt, dass eine lokale Kontrolle erst dann möglich ist, wenn die letzte klonogene Tumorzelle durch die Bestrahlung inaktiviert wurde. Die Wahrscheinlichkeit dafür nimmt mit der Dosis zu. In Abbildung 4.4 wird die Kontrollwahrscheinlichkeit als Funktion der applizierten Gesamtdosis exemplarisch dargestellt.

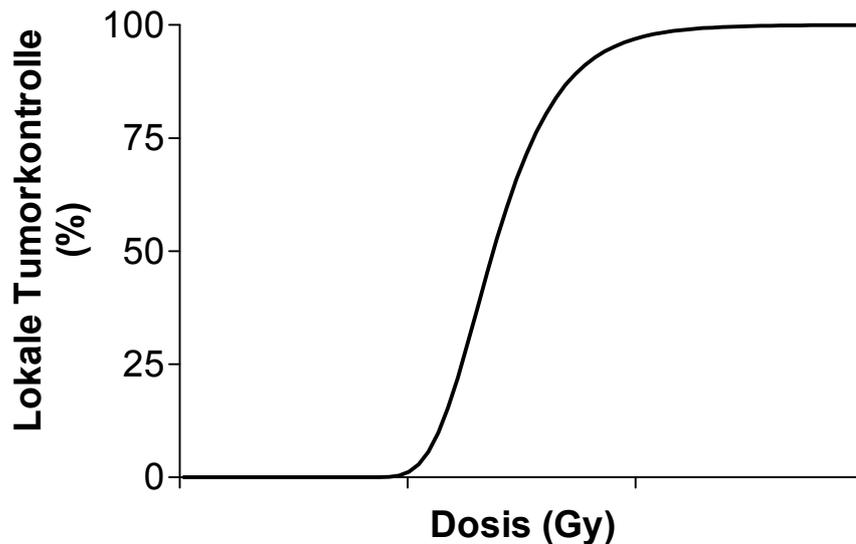


Abb. 4.4: Schematische Darstellung einer Dosis-Effekt-Kurve. Die lokale Kontrolle ist als Funktion der Gesamtdosis aufgetragen. Die Steigung gibt die Strahlenempfindlichkeit der Tumorzellen an; die Lage der Kurve wird von der Anzahl der Tumorzellen bestimmt.

Dieses Beispiel wurde unter Annahme einer definierten Anzahl klonogener Tumorzellen sowie einer definierten Strahlenempfindlichkeit dieser Zellen berechnet. Sie weist die typische sigmoide Form auf. Nach einem anfänglichen flachen Verlauf der Kurve steigt sie nach Überschreiten eines Schwellenwertes steil an, um dann bei höheren Werten wieder abzuflachen. Die Steigung der Kurve entspricht dabei der Strahlenempfindlichkeit der Tumorzellen, wohingegen die Lage der Kurve auf der x-Achse von der Anzahl vorhandener Tumorzellen bestimmt wird. Mit zunehmender Tumorgröße nimmt die Anzahl der Tumorzellen zu, zu deren Inaktivierung höhere Gesamtdosen nötig sind. Somit verschiebt sich die Dosis-Wirkungsbeziehung zu höheren Dosen, je größer der Tumor ist. Dies ist in Abbildung 4.5 veranschaulicht, in der beispielhaft die lokale Kontrollwahrscheinlichkeit für Tumoren mit einer Gesamtzellzahl von  $10^3$ ,  $10^4$  bzw.  $10^5$  berechnet wurden, wobei dieselbe Strahlenempfindlichkeit der Zellen wie in Beispiel der Abb. 4.4 zugrunde gelegt wurde.

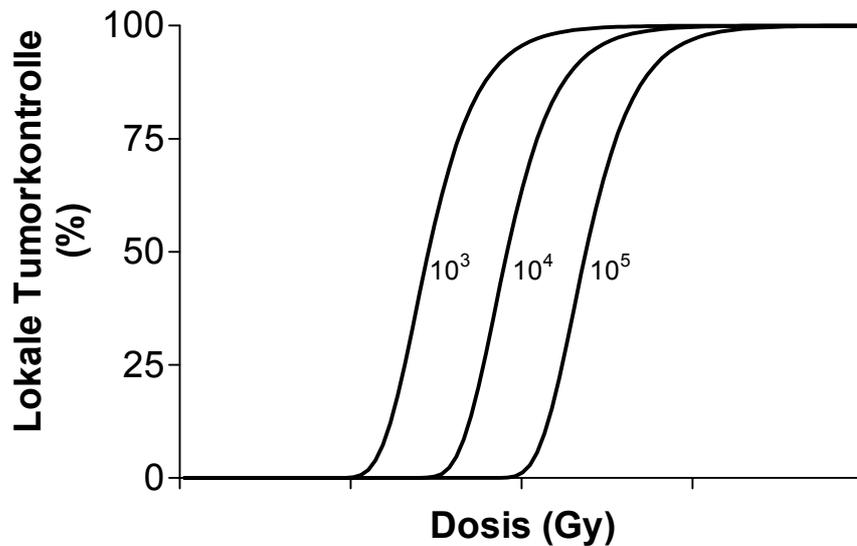


Abb. 4.5: Einfluss der Anzahl von Zellen pro Tumor auf die lokale Tumorkontrollwahrscheinlichkeit. Die Lage der Dosis-Effekt-Kurve auf der x-Achse wird maßgeblich von der TumorgroÙe bestimmt. Mit zunehmender Anzahl von Tumorzellen verschiebt sich die Lage der Überlebenskurve nach rechts, da eine größere Gesamtdosis benötigt wird, um den Tumor lokal zu kontrollieren. Die Neigung der Überlebenskurven bleiben dabei unverändert.

Die Kontrollwahrscheinlichkeit für eine Gruppe von Versuchstieren mit unterschiedlich großen Tumoren wird von deren Verteilung bestimmt, da sich die Kontrollwahrscheinlichkeit der gesamten Gruppe aus dem Mittelwert der einzelnen Überlebenskurven ergibt. Dieser Zusammenhang wird in Abbildung 4.6 verdeutlicht. Die Kontrollwahrscheinlichkeit (gestrichelte Kurve) für eine Versuchsgruppe, die zu gleichen Anteilen Tumoren mit  $10^3$ ,  $10^4$  bzw  $10^5$  Zellen pro Tumor enthält, weist eine veränderte Steigung auf. Die Steigung der resultierenden Überlebenskurve ist umso flacher, je größer die Variabilität der TumorgroÙe in der behandelten Gruppe ist.

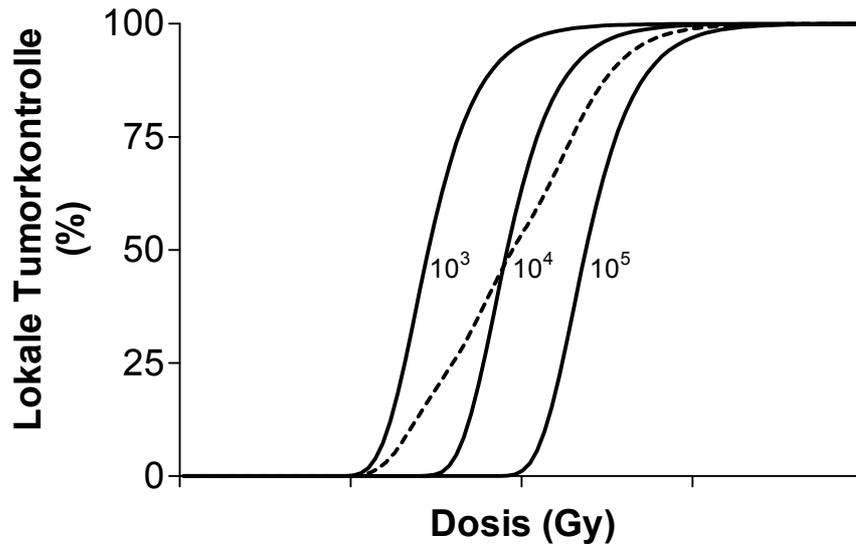


Abb. 4.6: Einfluss der Anzahl von Zellen pro Tumor auf die lokale Kontrollwahrscheinlichkeit nach Bestrahlung. Es wird der Einfluss einer heterogenen Verteilung der Anzahl von Zellen pro Tumor auf die lokale Kontrollwahrscheinlichkeit einer Gruppe bestrahlter Tumoren aufgezeigt. Die lokale Kontrolle ist als Funktion der Gesamtdosis aufgetragen. Unter der Voraussetzung gleich großer bestrahlter Tumoren mit gleicher Anzahl Tumorzellen, verläuft die resultierende Dosis-Effekt-Kurve relativ steil. Mit zunehmender Anzahl von Tumorzellen verschiebt sich die Dosis-Effekt-Kurve nach rechts. Die gestrichelte Linie beschreibt die Dosis-Effekt-Kurve einer Gruppe von Tumoren, in der zu gleichen Anteilen  $10^3$ ,  $10^4$  und  $10^5$  Tumorzellen vorliegen. In diesem Fall wird die resultierende Dosis-Effekt-Kurve durch einen flacheren Verlauf charakterisiert.

Bei dem vorliegenden Experiment betragen die Startvolumina der Tumoren 0.74g bis 1.98g mit einem medianen Startvolumen von 1.08 g. Unter der Annahme, dass 1 g Tumor  $2.3 \times 10^8$  klonogene Tumorzellen enthält (Jung, 1990), berechnet sich daraus eine Ausgangszellzahl von  $1.7 \times 10^8$  bis  $4.5 \times 10^8$  (Median =  $2.48 \times 10^8$  Zellen). Die Tumorzellzahl bei Therapiebeginn variiert somit zwischen  $10^8$  und  $10^9$  Zellen, also über 1 Dekade. Bei operativer Entfernung des Tumors können theoretisch  $10^5$  Zellen im Operationsgebiet verbleiben, da davon auszugehen ist, dass diese makroskopisch nicht sichtbar sind. Somit können nach Operation  $10^0$  bis  $10^5$  Tumorzellen verbleiben. Die Variationsbreite ist in dieser Situation mit 5 Dekaden deutlich größer als bei der alleinigen Bestrahlung.

Je größer die Variationsbreite der zu inaktivierenden Tumorzellzahl ist, desto flacher ist der Kurvenverlauf der resultierenden Dosis-Effekt-Kurve. Während mit alleiniger Strahlentherapie eine größere Anzahl von Tumorzellen inaktiviert werden muss, diese aber nur über eine Dekade variieren, trifft die postoperative Bestrahlung auf eine stark

reduzierte Anzahl von Tumorzellen, deren Variationsbreite aber 5 Dekaden beträgt. Aus den angeführten Überlegungen folgt, dass

1. die Dosis-Effekt-Kurve der postoperativen Bestrahlung zu kleineren Dosen verschoben sein, sowie
2. einen flacheren Verlauf aufweisen sollte.

Dies ist in Abbildung 4.7 verdeutlicht, in der der Einfluss einer heterogenen Anzahl von Tumorzellen auf die lokale Kontrolle bei alleiniger und postoperativer Strahlentherapie schematisch dargestellt wird. Analog zur vorherigen Abbildung ist die lokale Kontrolle wieder als Funktion der Gesamtdosis aufgetragen. Liegt in allen bestrahlten Tumoren die gleiche Anzahl an Tumorzellen vor, verläuft die resultierende Dosis-Effekt-Kurve relativ steil. Die gestrichelten Kurven beschreiben die lokale Kontrollwahrscheinlichkeit für eine Gruppe unterschiedlich großer Tumoren, die nach Bestrahlung aus Gruppen mit heterogener Zellzahlverteilung resultieren. Für die nur bestrahlten Tumoren wurden dabei Zellzahlen von  $10^8$  bis  $10^9$  pro Tumor und für die postoperativ bestrahlten Tumoren  $10^0$  bis  $10^5$  Zellen pro Tumor angenommen. Die resultierenden Dosis-Effekt-Kurven werden durch einen flacheren Verlauf charakterisiert, wobei diese Abflachung im Falle der postoperativen Strahlentherapie wesentlich stärker ausgeprägt ist. Da die alleinige Strahlentherapie auf eine größere Anzahl von Tumorzellen trifft, wird mehr Dosis benötigt, diese zu inaktivieren. Die Dosis-Effekt-Kurve der alleinigen Bestrahlung ist folglich auf der x-Achse nach rechts zu höheren Dosen verschoben.

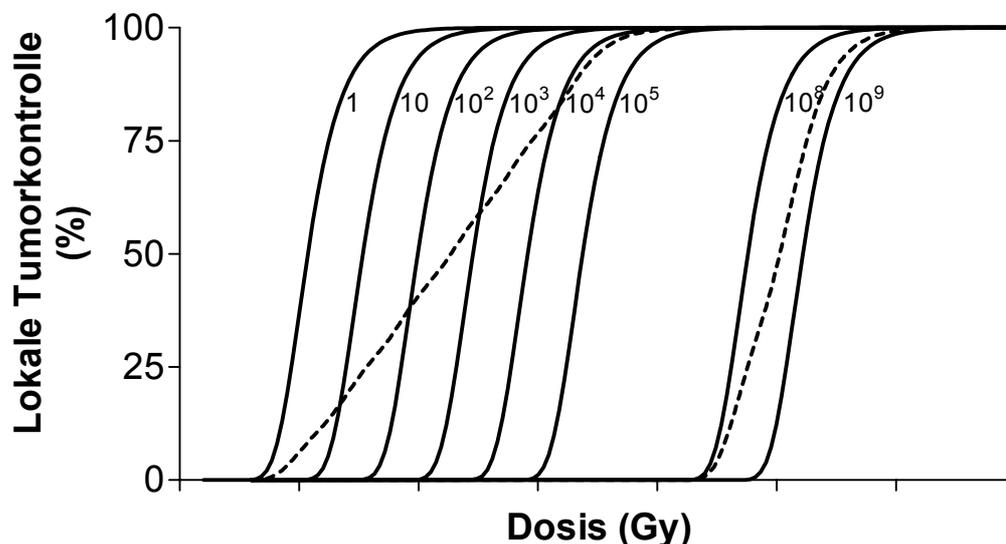


Abb. 4.7: Modell zur Erklärung der signifikant flacheren Dosis-Effekt-Beziehung der postoperativen Bestrahlung. Die lokale Kontrolle ist als Funktion der Gesamtdosis aufgetragen. Für die nur bestrahlten Tumoren wurden Zellzahlen von  $10^8$  bis  $10^9$  pro Tumor und für die postoperativ bestrahlten Tumoren  $10^0$  bis  $10^5$  Zellen pro Tumor angenommen. Die resultierende Dosis-Effekt-Kurve der postoperativen Strahlentherapie ist durch einen flacheren Verlauf als die Dosis-Effekt-Kurve der alleinigen Strahlentherapie charakterisiert.

Die theoretisch zu erwartende Abflachung der Dosis-Effekt-Kurve in der postoperativen Bestrahlungssituation wurde auch durch Suit et al. (1985 b) belegt. Die Autoren verglichen am C3Hf/Sed Fibrosarcoma der Maus eine postoperative mit einer alleinigen Strahlenbehandlung. Doch nicht nur in der postoperativen, auch bei der präoperativen Bestrahlung von Rektumkarzinomen und generell in der Behandlung subklinischer Metastasen ist eine Abflachung der Dosis-Effekt-Kurve in Verbindung mit einer Verringerung der Schwellendosis zu erwarten und nachweisbar (Withers, 1998). Die im Rahmen dieser Arbeit beschriebenen Beobachtungen am R1H-Tumor bestätigen diese Befunde.

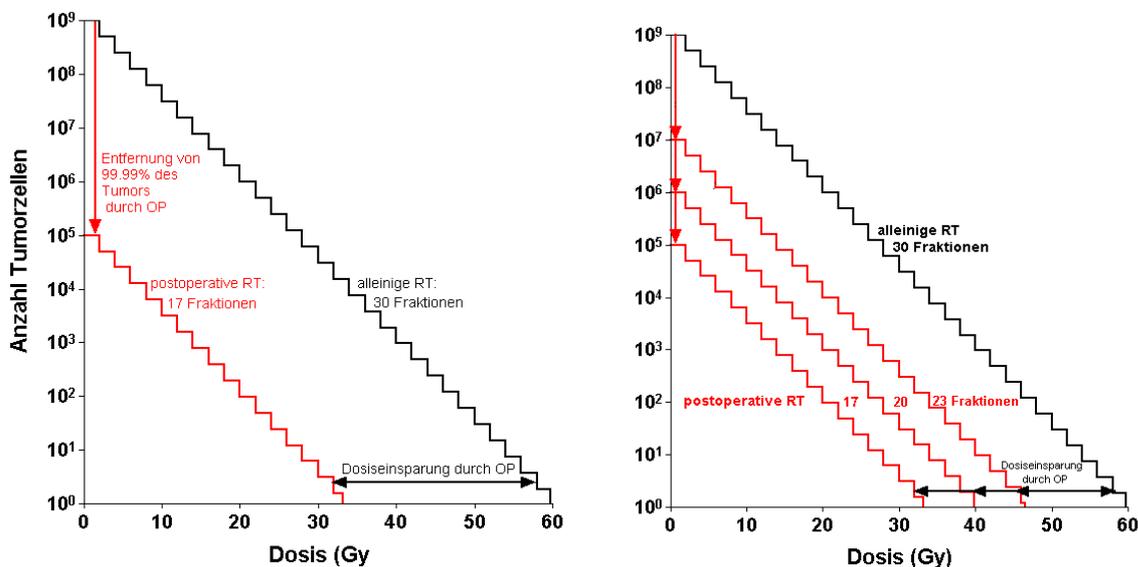
#### 4.5.2 Einfluss der chirurgischen Tumorentfernung

Abbildung 4.8 veranschaulicht schematisch den Einfluss einer Volumenreduzierung durch chirurgische Tumorentfernung auf den Effekt einer Strahlenbehandlung. Aufgetragen ist die Anzahl der Tumorzellen (logarithmisch) gegen die Gesamtdosis. In dem dargestellten Modell verringert jede Fraktion die Anzahl der vorhandenen Tumorzellen um einen bestimmten Anteil. Somit nimmt die Anzahl klonogener Tumorzellen stufenförmig ab (vorausgesetzt, dass keine Proliferation klonogener Tumorzellen zwischen zwei Bestrahlungsfractionen stattfindet). Im linken Teil der Abbildung ist eine Reduktion der klonogenen Tumorzellen durch die Operation von  $10^9$  auf  $10^5$  Zellen dargestellt, d.h. die vorhandene Tumormasse wird in diesem Beispiel um 99.99% reduziert. Zur Inaktivierung der noch verbleibenden  $10^5$  Tumorzellen wird eine geringere Gesamtdosis benötigt. Allerdings ist die Dosisersparnis nicht der Reduktion des Tumorumfanges durch die Operation proportional, sondern dem Logarithmus dieser Größe. In dem dargestellten Modell, wird nach Entfernung von 99.99% des Tumors immer noch 57% der Dosis benötigt, um einen der alleinigen Bestrahlung vergleichbaren Therapieeffekt zu erreichen.

Die Anzahl von 30 Fraktionen bei alleiniger Strahlentherapie verringert sich in dem angeführten Beispiel auf 17. Die Effektivität der Operation wird maßgeblich durch die Anzahl verbleibender Tumorzellen bestimmt. Die potentielle Dosisersparnis ist dabei um so größer, je weniger Tumorzellen nach der Operation verbleiben (rechte Abbildung). So werden zur Inaktivierung von  $10^7$ ,  $10^6$  bzw.  $10^5$  klonogenen Tumorzellen immer noch 17, 20 bzw. 23 der ursprünglich 30 notwendigen Fraktionen benötigt.

Abb. 4.8: Vergleich der Tumorzellinaktivierung durch alleinige und postoperative fraktionierte Strahlentherapie. Jede Treppenstufe entspricht einer isoeffektiven Bestrahlungsfraction.

Im vorliegenden Experiment wurde die Variabilität des Effektes der operativen Entfernung des Tumors auf die lokale Kontrolle bestimmt. Das Ergebnis ist schematisch in Abbildung 4.9 dargestellt. Im linken Teil der Abbildung (4.9 a) ist die Anzahl klonogener Tumorzellen halblogarithmisch als Funktion der Gesamtdosis aufgetragen. Zu Beginn der Behandlung liegt eine bestimmte Anzahl klonogener Tumorzellen vor ( $N_{\text{start}}$ ). Im Falle der alleinigen Strahlentherapie nimmt die Anzahl klonogener Tumorzellen kontinuierlich exponentiell ab, da jede verabreichte Dosiseneinheit (Fraktion) denselben Anteil vorhandener



Tumorzellen inaktiviert. Infolgedessen kommt es zu einer exponentiellen Abnahme klonogener Tumorzellen (durchgezogene Linie:  $RT_{\text{allein}}$ ). Die nach Abschluss der Behandlung noch vorliegende Anzahl klonogener Tumorzellen ( $N_{\text{min}}$ ) bestimmt die lokale Kontrollrate. Diese ist um so höher, je kleiner die Anzahl verbleibender klonogener Tumorzellen ist.

Die operative Entfernung des Tumors bewirkt zunächst eine drastische Reduktion in der Anzahl klonogener Tumorzellen. Die Anzahl der zu inaktivierenden Tumorzellen verschiebt sich dadurch auf der Ordinate von  $N_{\text{start}}$  zu  $N_{\text{start}'}$ . Die anschließende postoperative Bestrahlung bewirkt dann analog zum Effekt der alleinigen Radiotherapie eine exponentielle Abnahme in der Anzahl klonogener Tumorzellen. Da diese auf eine geringere Anzahl zu inaktivierender Tumorzellen trifft, ist eine geringere Dosis notwendig, um das gleiche Niveau an verbleibenden Tumorzellen nach Therapie ( $N_{\text{min}}$ ) zu erreichen. Allerdings ist die Dosisersparnis nicht der Reduktion des Tumorumfanges durch die Operation proportional, sondern dem Logarithmus dieser Größe (siehe Abb. 4.8). Die potentielle Dosisersparnis ist dabei umso größer, je weniger Tumorzellen nach der Operation verbleiben. Da jeder Tumor individuelle Eigenheiten besitzt (mit der Haut oder Unterlage verbacken bzw. verwachsen, blutreich, nekrotisch usw.) und der Operateur von Eingriff zu Eingriff eventuell unterschiedlich exakt arbeitet, kann das Ergebnis der Operation deutlich variieren, so dass große Unterschiede in der Anzahl verbleibender Tumorzellen, die von der postoperativ applizierten Gesamtdosis inaktiviert werden müssen, bestehen können. Die postoperative Bestrahlung trifft somit die unterschiedlichsten Ausgangszellzahlen, wobei sehr große bzw. sehr kleine Zellzahlen weniger häufig vorliegen werden.

Anhand der vorliegenden Ergebnisse konnte der Effekt der Chirurgie quantifiziert werden. (siehe Kap. 3.2). Es ergab sich ein Reduktionsfaktor von  $9.3 \times 10^{-5}$  (95% VB:  $1.5 \times 10^{-5}$  ..  $4.5 \times 10^{-4}$ ) sowie dessen Variabilität von 3.1 (95% VB 1.45 .. 3.8). D.h. die Tumorzellzahl wird durch die Chirurgie um ca. 4 Dekaden reduziert. Da, wie bereits erwähnt, die Operationsverläufe keinesfalls identisch sind, kommt es bei den chirurgischen Tumorentfernungen zu unterschiedlich großen Reduktionen der Tumorzellzahl. Dies soll in Abbildung 4.9 a durch die unterschiedlich starke Liniendicke verdeutlicht werden. Am häufigsten wird nach Operation die Anzahl klonogener Tumorzellen erwartet, welche durch die Reduktion mit dem Faktor der Chirurgie ( $9.3 \times 10^{-5}$ ) erreicht wird. Diese kann aber in ihrer Größe variieren, wobei das Auftreten sehr kleiner oder sehr großer Zellzahlen eher unwahrscheinlicher wird. Daher ist in den Randbereichen die Liniendicke dünner gewählt als in der Mitte. Diese Breite der Verteilung der möglichen Tumorzellreste nach Operation wird mit der Variabilität beschrieben und in Abbildung 4.9 b veranschaulicht. In ihr ist die Häufigkeitsdichte als Funktion der Anzahl klonogener Tumorzellen aufgetragen.

Dabei beschreibt die Häufigkeitsdichte die Verteilung der Wahrscheinlichkeiten, dass eine Variable einen Wert zwischen zwei Punkten a und b einnimmt. Das Auftreten möglicher Tumorzellreste ist quantitativ gemäß einer Gaußschen-Funktion verteilt.

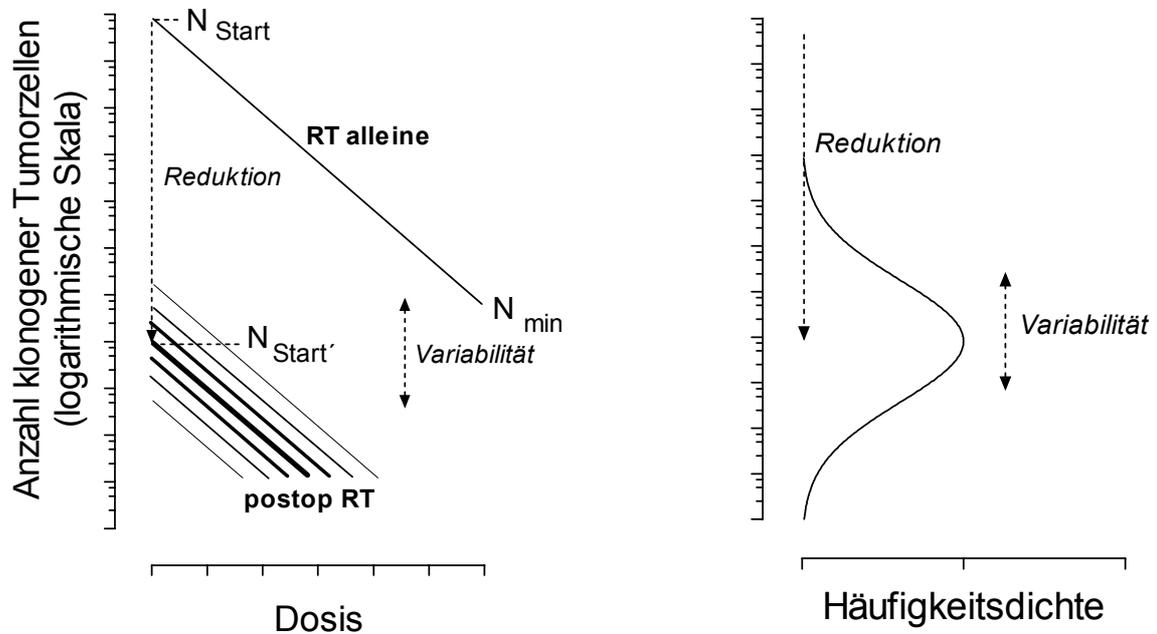


Abb. 4.9 a,b: Schematische Darstellung der Abnahme klonogener Tumorzellen durch alleinige und kombinierte Strahlentherapie. Die Anzahl klonogener Tumorzellen ist auf einer logarithmischen Skala dargestellt. Die durchgehenden Diagonalen in der linken Abbildung kennzeichnen den Effekt der Bestrahlungskomponente, die gestrichelten Linien den Effekt der Chirurgie. Zur Verdeutlichung der Variabilität ist in der rechten Abbildung die Anzahl klonogener Tumorzellen gegen die Häufigkeitsdichte aufgetragen. Es wird die Verteilung der möglichen Anzahl von Tumorzellen nach Operation dargestellt. Sie entspricht der Verteilung einer Gaußschen-Funktion.

#### 4.6 Zusammenfassender Vergleich der alleinigen und postoperativen Bestrahlung

Die generellen Unterschiede zwischen den Dosis-Wirkungsbeziehungen alleiniger und postoperativer Strahlentherapie sind in Tabelle 4.1 gegenübergestellt.

Tab. 4.1: Charakteristika einer postoperativen und alleinigen Strahlentherapie

	Postoperative RT	alleinige RT
<b>Dosis-Effekt-Beziehung</b>	flach	steil

<b>Tumorkontrolldosis</b>	geringer	höher
<b>Minimaldosis</b>	nein	ja
<b>Tumorizider Effekt kleiner Gesamtdosen</b>	ja	nein

Die charakteristischen Unterschiede in den Dosis-Effekt-Kurven beider Behandlungsmodalitäten verdeutlichen, dass man bei der postoperativen Bestrahlung eine deutliche Abflachung der sonst steilen Dosis-Effekt-Kurve erhält. Bei der alleinigen Bestrahlung bewirken, aufgrund der starken Steigung der Dosis-Effekt-Kurve, geringfügige Änderungen der Gesamtdosis große Variationen der lokalen Tumorkontrolle, wohingegen bei der postoperativen Strahlentherapie kleine Variationen in der Bestrahlung nicht so deutliche Wirkungsunterschiede aufweisen. Andererseits können bei der postoperativen Therapie über einen größeren Dosisbereich Einflüsse auf die lokale Kontrolle erwartet werden.

Durch die chirurgische Tumorentfernung kommt es zu einer Reduktion der klonogenen Tumorzellen, die durch eine anschließende Bestrahlung inaktiviert werden müssen. Es wird somit bei der postoperativen Strahlentherapie, im Vergleich zur alleinigen Bestrahlung, eine geringere Dosis benötigt, um den Tumor lokal zu kontrollieren. Die potentielle Dosisersparnis ist jedoch nicht proportional zur Volumenreduktion, sondern abhängig von der Anzahl verbleibender Tumorzellen nach der Operation.

Im Fall eines soliden Tumors, der mit alleiniger Strahlentherapie behandelt wird, muss zunächst die Tumorzellzahl über mehrere Dekaden reduziert werden. Erst nach Applikation einer Mindestdosis sind die vorhandenen Tumorzellen soweit in ihrer Anzahl reduziert, dass die nächste Dosisseinheit über Heilung oder Nicht-Heilung entscheiden kann. Dies bedeutet, dass für eine alleinige strahlentherapeutische Behandlung kurativer Intention notwendig ist, diese Minimaldosis zu applizieren. In der postoperativen Situation hingegen existiert keine „Minimaldosis“. Auch kleinste Dosisseinheiten können eine Zunahme der Kontrollwahrscheinlichkeit bewirken, wenn auch diese mit der Dosis

weniger steil ansteigt. Als Folge dessen weisen kleine, postoperativ applizierte Dosen einen tumoriziden Effekt auf. Auch wenn die Dosis-Effekt-Kurve signifikant flacher verläuft, nimmt im Bereich kleiner Dosen die Kontrollwahrscheinlichkeit mit der Dosis zu. Die vorliegenden Ergebnisse der postoperativen Bestrahlung zeigen keine deutliche Erhöhung der lokalen Kontrolle im Bereich zwischen 7.2 Gy und 12 Gy. Da aber nach der Operation theoretisch ein kleiner Tumorzellrest mit gleicher Wahrscheinlichkeit verbleiben kann wie ein größerer, wird eine postoperative Bestrahlung mit einer geringen Gesamtdosis zumindest bei den Tumorresten mit wenigen Zellen zur Verbesserung der lokalen Kontrolle führen. Anhand dieser Überlegung ist für die postoperative Dosis-Effekt-Kurve eine Zunahme der Kontrollwahrscheinlichkeit auch im Bereich kleiner Gesamtdosen zu erwarten.

## 4.7 Diskussion der experimentellen und klinischen Literatur

Carl et al. untersuchten 1989 am Tumormodell die Effektivität der postoperativen Bestrahlung. Sie applizierten nach operativer Entfernung des Tumorgewebes Gesamtdosen von 0, 15, 30, 45 und 60 Gy, gegeben in 4 Fraktionen pro Woche über 6 Wochen. Die Ergebnisse der postoperativen Bestrahlung wurden verglichen mit dem Effekt einer Standardstrahlentherapie, bei der 30 Fraktionen mit 2 Gy pro Fraktion über 6 Wochen appliziert wurden. Es rezidierten alle postoperativ bestrahlten Tumoren. Postoperativ applizierte Gesamtdosen von weniger als 30 Gy im Vergleich zur alleinigen Operation hatten keinen Effekt auf das Wiederaufwachsen des Tumors. Bei Gesamtdosen über 30 Gy ergaben sich ähnliche Ergebnisse wie bei der alleinigen Strahlentherapie.

Zur Begründung zogen Carl et al. die Hypothese in Betracht, dass durch die Operation das den Tumor versorgende Gefäßsystem geschädigt würde. So entstände für die nach Operation verbliebenen Tumorzellen ein hypoxischer Zustand. Dieser verringert die Wirkung der Bestrahlung auf die Tumorzellen, so dass bei der Gabe geringer Gesamtdosen ein Effekt auf die lokale Tumorkontrolle ausbliebe. Dagegen spricht jedoch der steile Anstieg des Tumolvolumens der Rezidive, den Carl et al. in ihren Experimenten beobachteten. Eine Schädigung des Gefäßnetzes sollte auch das rapide Wachstum der Rezidive behindern, es sei denn, eine Versorgung per diffusionem könnte gewährleistet sein.

Perez et al. (1970) verglichen die Wirkung von präoperativer und postoperativer Bestrahlung. Für ihre Versuche verwendeten sie das Gardner Lymphosarkom in der Flanke von C<sub>3</sub>H/ANF Mäusen. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass postoperativ applizierte Gesamtdosen von 250 bzw. 500 rad nur eine geringe Verbesserung der Heilungsrate im Vergleich zur alleinigen Operation bewirkten (nur OP 34%, 250 rad postop. 45%, 500 rad postop. 44%). Bei applizierten Gesamtdosen von über 2000 rad wurde eine deutliche Steigerung der Heilungsrate erzielt. Auch Perez et al. zogen zur Erklärung ihrer Ergebnisse die Vermutung in Betracht, dass durch das Verletzen der Gefäße bei der Operation der Sauerstoffpartialdruck sinkt und somit höhere Bestrahlungsdosen benötigt werden, um die verbleibenden Zellen zu inaktivieren.

Zusammen mit dem vorliegenden Experiment liegen hier drei unabhängige Versuche vor, die alle auf ein ähnliches Ergebnis kommen: Niedrige Dosisgaben bei der postoperativen Strahlentherapie führen zu kaum einer Verbesserung der lokalen Tumorkontrolle. Auch wenn bislang keine naheliegende biologische Hypothese zur Erklärung gefunden werden konnte, sollte man diesem Ergebnis dennoch Bedeutung beimessen.

Nach der chirurgischen Tumorentfernung sind - wenn überhaupt - noch einzelne Tumorzellen vorhanden, die in der Peripherie zerstreut liegen. Die Bedingungen, unter denen in einem Tumor Hypoxie entstehen kann, sind somit nicht mehr gegeben. Die noch vorhandenen Zellen können theoretisch aus dem umliegenden Gewebe ausreichend durch Diffusion mit Sauerstoff versorgt werden. Somit ist in Frage zu stellen, ob es in einer postoperativen Situation generell zur Ausprägung von Hypoxie im noch vorhandenen Resttumor kommen kann. Alle genannten Unterschiede zwischen alleiniger und postoperativer Strahlentherapie führen zu der Überlegung, dass es keine offensichtliche Rechtfertigung gibt, in der postoperativen Strahlentherapie die gleichen Fraktionierungsschemata zu verwenden, wie bei der alleinigen Strahlentherapie. Wenn prinzipielle Unterschiede zwischen den verschiedenen Behandlungsstrategien bestehen, dann können möglicherweise auch Unterschiede bezüglich der optimalen Fraktionierung vorliegen. Diesbezüglich gibt es aber bisher weder klinische noch experimentelle Untersuchungen.

## 5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollte der Einfluss der Dosis pro Fraktion auf die Wirkung der postoperativen Bestrahlung untersucht und mit dem Effekt der alleinigen Bestrahlung verglichen werden. Als Versuchsmodell wurde der R1H-Tumor auf Wag/Rij-Albinoratten verwandt.

Die Versuchstiere wurden mit 1.2, 2.4 und 4.0 Gy pro Fraktion bestrahlt und die Effektivität unterschiedlicher Gesamtdosen von 7.2 bis 60.0 Gy miteinander verglichen. Zur Bestimmung des Effektes der Operation wurde eine Gruppe nur operierter Tiere mitgeführt. Als Standardbestrahlung wurden Gruppen mit Gesamtdosen von 40.8 bis 91.2 Gy über fünf Wochen bestrahlt. Die Dosis pro Fraktion betrug hierbei 2.4 Gy.

Zur Beurteilung der Tumorreaktion auf die Bestrahlung wurde die lokale Kontrolle des Primärtumors, sowie die aus den Wachstumskurven ermittelte Wachstumsverzögerung, Nettowachstumsverzögerung und der Tumor-Bett-Effekt herangezogen.

Es konnte im Versuchsarm der postoperativen Strahlentherapie kein Einfluss der Dosis pro Fraktion belegt werden, da schon nach alleiniger chirurgischer Tumorentfernung eine lokale Kontrollrate von 78% erreicht wurde. Die geringe Rezidivinzidenz verhinderte den Nachweis eines möglicherweise vorhandenen Einflusses der Fraktionierung auf den Effekt einer postoperativen Bestrahlung.

Anhand des Datenmaterials konnte dennoch nachgewiesen werden, dass die Dosis-Effekt-Kurven der postoperativen und der alleinigen Strahlentherapie prinzipielle Unterschiede aufweisen. Die Dosis-Effekt-Kurve der alleinigen Strahlentherapie weist den für Dosis-Effekt-Kurven typischen sigmoiden Verlauf auf. Sie ist durch eine Schwellendosis sowie durch einen steilen Anstieg im Dosisbereich zwischen 60 und 80 Gy charakterisiert. Die Dosis-Effekt-Kurve der postoperativen Strahlentherapie lässt weder eine Schwellendosis noch einen steilen Anstieg erkennen. D.h. schon durch die Gabe kleiner Gesamtdosen kann eine Verbesserung der lokalen Tumorkontrolle erreicht werden. Der flachere Verlauf der

postoperativen Dosis-Effekt-Kurve ist auf die größere Heterogenität der postoperativen verbleibenden Tumorzellen zurückzuführen.

Weiterhin konnte aus den Daten folgende Rückschlüsse gezogen werden:

1. Wird die Reduzierung der Tumorzellen durch die Operation quantifiziert, so ergibt sich ein Faktor für die Chirurgie von  $9.3 \times 10^{-5}$  (95% VB:  $1.5 \times 10^{-5} \dots 4.5 \times 10^{-4}$ ) mit einer Variabilität von 3.1 (95% VB 1.45 .. 3.8).

Durch diese Zellreduzierung kommt es zu einer Verringerung der benötigten Gesamtdosis zum Erreichen der lokalen Tumorkontrolle im Vergleich zur alleinigen Bestrahlung.

2. Mit Hilfe eines Modells konnte aus Nettowachstumsverzögerung pro Dosis die Dosisersparnis von 20 Gy durch die Operation bestimmt werden.

## 6. Ausblick

Die vorliegende Arbeit konnte den Einfluss der Dosis pro Fraktion auf die Wirkung einer postoperativen Strahlentherapie nicht klären. Da keine experimentelle Untersuchungen zu dieser durchaus klinisch relevanten Fragestellung vorliegen, wäre eine Wiederholung dieses Experimentes wünschenswert. Voraussetzung dafür ist zunächst die Bestimmung des optimalen Tumorstartvolumens. Die Tumoren müssen zu Behandlungsbeginn groß genug sein, um eine möglichst hohe Rezidivrate nach der chirurgischen Tumorentfernung sicherzustellen, aber klein genug, um das Risiko von Lungenmetastasen zu minimieren.

Darüber hinaus wäre es wünschenswert, den Einfluss des Zeitintervalls zwischen dem chirurgischen Eingriff und dem Bestrahlungsbeginn zu bestimmen. Obwohl theoretisch ein negativer Einfluss auf das Therapieergebnis zu erwarten ist, liegen diesbezüglich widersprüchliche klinische Erkenntnisse vor (Fietkau, 2000).

Auch gilt es zu klären, ob generelle Unterschiede zwischen dem therapeutischen Ergebnis einer prä- bzw. postoperativen Bestrahlung bestehen. Nur systematische experimentelle Untersuchungen können hier zum Erkenntnisgewinn führen und Hinweise zur Optimierung in der klinischen Anwendung geben.

## 7. Literatur

Afzal SMJ, Tenforde TS, Parr SS, Curtis SB: PLD repair in rat rhabdomyosarkoma tumour cells irradiated in vivo and in vitro with high-LET and low-LET radiation. *Radiat. Res.* 107 (1986): 354-366

Algan O, Tabesh T, Hanalon A, Boente M, Lanciano RM: Superior outcome in patients treated with postoperative radiation therapy for pathologic stage I/II endometrial cancer. *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.* 35 (1996): 925-933

Alper T: *Cellular Radiobiology*. Cambridge. Cambridge University Press (1979)

Bahnsen J, Raabe A, Beck-Bornholdt HP: Unterschiedliche Beziehung zwischen Gesamtdosis und Tumorkontrolle bei primärer und postoperativer Strahlentherapie des R1H-Tumors. *Proceedings des 8. Symposiums Experimentelle Strahlentherapie und Klinische Strahlenbiologie, Hamburg* (1999): 54-57

Baker HJ, Lindsay JR, Weisbroth SH: *The laboratory rat*. Academic Press, New York, Vol. 1 und 2

Barendsen GW, Broese JJ: Experimental radiotherapy of a rat rhabdomyosarkoma with 15 MeV neutrons and 300 kV X-rays. I. Effects of single exposures. *Europ. J. Cancer* 5 (1969): 373-391

Barendsen GW, Broese JJ: Experimental radiotherapy of a rat rhabdomyosarcoma with 15 MeV neutrons and 300 kV X-rays. II. Effects of fractionated treatments, applied five times a week for several weeks. *Europ. J. Cancer* 6 (1970): 89-109

Baumann M, Becker S, Krüger HJ, Vogler H, Maurer T, Beck-Bornholdt HP: Flow cytometric determination of the time of metastasis during fractionated radiation therapy of the rat rhabdomyosarcoma R1H. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 58 (1990): 361-369

Baumann M: Fraktionierte Strahlentherapie menschlicher FaDu-Plattenepithelcarcinome in Nacktmäusen. Habilitationsschrift Hamburg (1994):4 ff

Beck HP, Brammer I, Zywiets F, Jung H: The application of flowcytometry for the quantification of the response of experimental tumours to irradiation. *Cytometry* 2 (1981): 44-46

Beck HP, Omniczynski M: Comparison of the applicability of flow cytometry and audiography for cell kinetics. Radiotoxic effects of incorporated <sup>3</sup>H-thymidine and tumour response to irradiation. In: Laerum OD, Lindmo T, Thorud E, eds. *Flow cytometry IV*. Oslo: Uneversitetsforlaget (1980): 327-330

Beck-Bornholdt HP, Dubben HH: Vorlesung Statistik, Hamburg (1994 a)

Beck-Bornholdt HP, Dubben HH: Potential pitfalls in the use of p-values and in interpretation of significance levels. *Radioth Oncol* 33 (1994 b): 171-176

Beck-Bornholdt HP, Würschmidt F, Vogler H. Net growth delay: A novel parameter derived from tumour growth curves. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 13 (1987): 773-777

Beck-Bornholdt H-P, Maurer T, Becker S, Omniczynski M, Vogler H, Würschmidt F. Radiotherapy of the rhabdomyosarcoma R1H of the rat: hyperfractionation – 126 fractions applied within 6 weeks. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 16 (1989):701-705

Beck-Bornholdt HP, Omniczynski M, Theis E, Vogler H, Würschmidt F: Influence of treatment time on the response of rat rhabdomyosarcoma R1H to fractionated irradiation. *Acta Oncol.* 30 (1991): 57-63

Beck-Bornholdt HP: Experimental radiotherapy of the rat. Habilitationsschrift, Hamburg (1987)

Beck-Bornholdt HP: Statistik 3: Praktische Einführung in die Poisson-Verteilung. Skript zur Vorlesung SS 95, Hamburg (1995 a)

Beck-Bornholdt HP: Statistik 6: Die Maximum-Likelihood-Methode. Skript zur Vorlesung im SS 95, Hamburg (1995 b)

Behörde für Arbeit, Gesundheit und Soziales der Hansestadt Hamburg: Hamburger Krebsdokumentation 1992-1994 (1999)

Bush RS, Jenkin RDT, Allt WEC, Beale FA, Dembo AJ, Pringle, JF: Definite evidence for hypoxic cells influencing cure in radiotherapy. *Br. J. Cancer* 37 (1978): 302-306

Carl UM, Beck-Bornholdt HP, Baumann M, Lorenzen J, Vogler H: Radiotherapy of the rhabdomyosarcoma R1H of the rat: postoperative radiotherapy. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 18 (1990): 883-886

Carl UM, Sminia P, Bahnsen J, Fröschle G, Omniczynski M, Wolf L, Krüger U, Hartmann KA, Beck-Bornholdt H-P: Post-operative radiotherapy of the rhabdomyosarcoma R1H of the rat. *Sarcoma* 1 (1997): 143-147

Curtis SB, Tenforde TS, Assessment of tumour response in a rat rhabdomyosarkoma. *Br J Cancer* 41/4 (1980): 266-270

De Vita VT: Principles in chemotherapy. In: De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA (Hersg.) *Cancer*, 4th Edition, J.B. Lippincott, Philadelphia (1993): 67-73

Denekamp J: Is any single in situ assay of tumour response adequate? *Br. J. Cancer* 41/4 (1980): 56-63

Dorie MJ, Kallman RF: Reoxygenation in the RIF-1 tumor. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 10 (1984): 687-693

Elkind MM, Sutton H: X-ray damage and recovery in mammalian cells in culture. *Nature* 184 (1959): 1293-1295

Embleton MJ, Middles JG: Immune responses to naturally occurring rat sarcomas. *Br. J. Cancer* 43 (1981): 44-52

Feigen M, Cummings B, Hawkins N, Keane T, O'Sullivan B, Wong S: Low dose postoperative adjuvant radiation therapy for rectal cancers is ineffective. *Radiother. Oncol.* 13 (1988): 181-186

Fertil B, Malaise EP: Inherent cellular radiosensitivity as a basic concept for human tumor radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 7 (1981): 621-629

Fidorra J: Die Strahlenempfindlichkeit von Säugetierzellen in den verschiedenen Zyklusphasen und ihre Beziehung zu Erholungsprozessen. Dissertation; Fachbereich Physik, Universität Hamburg (1977)

Fietkau R: Einfluss des Zeitintervalls Operation-Strahlentherapie auf die Behandlungsergebnisse. *Strahlenther. Onkol.* 176/10 (2000): 452-7

Fisher B, Anderson S, Redmond CK, Wolmark N, Wickerham DL, Gronin WM: Reanalysis and results after 12 years of follow-up in a randomized clinical trial comparing total mastectomy with lumpectomy with or without irradiation in the treatment of breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 333 (1995): 1456-1461

Fowler JF, Sheldon PW, Harris SR, Hill SA, Ayres SE: Relative effectiveness of 12-hourly fractionation and a non-uniform X-ray schedule in the optimum fractionation of C3H mouse mammary tumours. *Br. J. Radiol.* 48 (1975): 581-589

Gray LH, Conger AD, Ebert H, 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 (1953): 638-648

Greven KM, Corn BW, Case D, Purser P, Lanciano RM: Which prognostic factors influence the outcome of patients with surgically stages endometrial cancer treated with adjuvant radiation? *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.* 39 (1997): 413-418

Hall EJ: Radiobiology for the radiologist. JB Lippincott Company, Philadelphia (1988)

Hellman S: Principles of radiotherapy. In: De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA (Hersg.) Cancer, 4th Edition, J.B. Lippincott, Philadelphia (1993): 248-275

Henk JM, Smith CM: Radiotherapy and hyperbaric oxygen in head and neck cancer. Interim report of second clinical trial. Lancet 2 (1977): 103-104

Herrmann T, Baumann M: Klinische Strahlenbiologie. Gustav Fischer Verlag Jena (1997): 77ff

Hermes AF, Barendsen GW: Cellular proliferation pattern in a experimental rhabdomyosarcoma in the rat. Europ. J. Cancer 3 (1967): 361-369

Hermens HF, Barendsen GW: Changes of cell proliferation characteristics in a rat rhabdomyosarcoma before and after X-irradiation. Europ. J. Cancer 5 (1969): 173-189

Hermes AF, Barendsen GW: The proliferative status and clonogenic capacity of tumour cells in a transplantable rhabdomyosarkoma of the rat before and after irradiation with 800 raf of X-rays. Cell tissue Kinet 11 (1978): 83-100

Hewitt HB, Blake ER: The growth of transplanted murrine tumours in preirradiated sites. Br. J. Cancer 22 (1968): 808-824

Holthusen H: Erfahrungen über die Verträglichkeitsgrenze für Roentgenstrahlen und deren Nutzenanwendung. Strahlentherapie 57 (1936): 254-269

Hornsey S: The effect of hypoxia of the radiosensitivity of the epithelial cells of the jejunum, Int. J. Radiat. Biol. 18 (1970): 539-546

Hütte des Ingenieurs Taschenbuch. Verlag Ernst & Sohn, Berlin (1955): 231 ff

Johnson R, Fowler JF, Zanelli GD: Changes in mouse blood pressure, tumour blood flow, and core and tumour temperatures following Nembutal or Urethane anaesthesia. *Radiology* 118 (1976): 697-703

Jung H, Beck HP, Brammer I, Zywiets F: Factors contributing to tumour growth after irradiation. *Br J Cancer* 41/4 (1980): 226-229

Jung H, Beck HP, Brammer I, Zywiets F: Depopulation and repopulation of the R1H rhabdomyosarkoma of the rat after X-irradiation. *Europ. J. Cancer* 17 (1981): 375-386

Jung H, Krüger HJ, Brammer I, Zywiets F, Beck-Bornholdt HP: Cell population kinetics of the rhabdomyosarkoma R1H of the rat after single doses of X-rays. *Int. J. Radiat. Biol.* 57 (1990): 567-589

Kal HB: Proliferation behaviour of P and Q cells in a rat rhabdomyosarcoma after irradiation as determined by DNA measurements. *Europ. J. Cancer* 9 (1973): 753

Kal HB, Gaiser JF: The effect of anaesthesia on the radiosensitivity of rat intestine, foot skin and R1-tumours. *Int. J. Radiat. Biol.* 37 (1980): 447-450

Kallman RF: The phenomenon of reoxygenation and its implications for fractionated radiotherapy. *Radiology* 105 (1972): 135-142

Kallman RF (Hrsg) *Rodent tumour models in experimental cancer therapy*. Pergamon Press, New York (1987)

Kellerer AM, Rossi HH: The theory of dual radiation action. *Cur Top Radiat Res* 8 (1972): 85-158

Kitakabu Y, Shibamoto Y, Sasai D, Ono K, Mitsuyuki A: Variations of the hypoxic fraction in the SCC VII tumors after single dose and during fractionated radiation therapy: Assessment without anaesthesia or physical restraint of mice. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 29 (1991): 709-714

Kummermehr J, Trott KP: Rate of repopulation in a slow and fast growing mouse tumour. In: Progress in Radio-Oncology (Eds. Kärcher KH, Kogelnik HD, Reinartz G), Vol. II Raven press New York: 299-307 (1982)

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 tumours, Springer-Verlag, Berlin (1993): 1114-1147

Lindberg RD, Martin RG, Romsdahl MM, Barkley HAT: Conservative surgery and postoperative radiotherapy in 300 adults with soft-tissue sarcomas. Cancer 47 (1981): 2391-97

Menke H, Vaupel P: Effect of injectable or inhalational anesthetics and of neuroleptic, neuroleptanalgesic, and sedative agents on tumor blood flow. Radiation Research 114 (1988): 64-76

Morris AD, Morris RD, Wilson JF: Breast-conserving therapy vs. Mastectomy in early-stage breast cancer: a meta analysis of 10-year survival. Cancer J. Sci.. Amer. 3 (1997): 6-12

Moulder RR, Fischer JJ, Milardo R: Time-dose relationships for the cure of an experimental rat tumour with fractionated radiation. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 10 (1976): 695-712

Moulder RR, Rockwell S: Hypoxic fractions of solid tumours: experimental techniques, methods of analysis, and a survey of existing data. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 10 (1984): 695-712

Myerson RJ, Nichalski JM, King ML, Birnbaum E, Fleshman J, Fry R, Kodner I, Lacey D, Lockett MA: Adjuvant radiation therapy for rectal carcinoma: predictors of outcome. Int. J. Radiation Oncol. Biol. Phys. 32/1 (1995): 41-50

Norin T, Onyango J: Radiotherapy in Burkitt's lymphoma: conventional and superfractionated regimen – early results. *Int. J. Radiat. Biol. Oncol. Phys.* 2 (1977): 399-406

Perez CA, Olson J: Preoperative vs. postoperative irradiation; comparison in an experimental animal tumor system. *Am. J. Roentgenology* 108 /2 (1970): 396-404

Perez CA, Brady LW: *Principles and Practise of Radiation Oncology*. Third edition. Lippincott-Raven, Philadelphia (1998)

Raabe A, Bahnsen J, Maurer P, Omniczynski M, Beck-Bornholdt H-P: Postoperative Strahlentherapie des R1H. *Strahlenther. Onkol.* 174/1 (1998): 109

Raabe A, Eickhölder S, Zieron J, Krüll A, Beck-Bornholdt H-P, Alberi W: Influence of dose per fraction and overall treatment time on the response of pulmonary micrometastases of the R1H-tumour to fractionated irradiation . *Radiother. Oncol.* 56 (2000): 259-264

Reinhold HS: A cell dispersion technique for use in quantitative transplantation studies with solid and human tumours. *Europ. J. Cancer* 1 (1965): 67-71

Reinhold HS: In vivo observation of tumor blood flow. In: Peterson HI, ed. *Tumor blood circulation*. Boca Raton, Florida: CRC Press (1979): 115-128

Robert-Koch-Institut: mündliche Mitteilung (2000)

Rosenberg SA: Principles of surgical oncology. In De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA (Hersg.) *Cancer*, 4th Edition, J.B. Lippincott, Philadelphia (1993): 238-247

Sachs L: *Angewandte Statistik*. Springer-Verlag, Berlin (1991): 129

Schmoll H-J, Höffken K, Possinger K: *Kompendium Internistische Onkologie Teil1*, Springer-Verlag, Berlin (1996): 281ff

Schwarz G: Über Desensibilisierung gegen Röntgen- und Radiumstrahlen. Münchner Med. Wschr. 56 (1909): 1217-1218

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

Shibamoto Y, Ssai K, Abe M: The radiation response of SCCVII tumour cells in CH3/HE mice varies with the irradiation conditions: Radiat. Res. 109 (1987): 352-354

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

Spanos WJ, Shukowsky LJ, Fletcher GH: Time, dose and tumour volume relationships in irradiation of squamous cell carcinoma of the base of the tongue. Cancer 37 (1976): 2591-2599

Spiro IJ, Kennedy KA, Stickler R, Ling CC: Cellular and molecular repair of X-ray-induced damage: Dependence on oxygen tension and nutritional status. Radiat. Res. 101 (1985): 144-155

Statistisches Landesamt Hamburg: mündliche Mitteilung (2000)

Steel GG, Adams K: Stem-cell survival and tumour control in the Lewis lung carcinoma. Cancer Res. 35 (1975): 1530-1535

Steel GG: Growth kinetics of tumours. Clarendon press, Oxford (1977)

Suit HD, Mankin HJ, Wood WC, Proppe KH: Preoperative, intraoperative, and postoperative radiation in the treatment of primary soft tissue sarcoma. Cancer 55 (1985a), 2659-2667

Suit HD, Takeshi T: Rationale for combining surgery and radiation therapy. Cancer 55 (1985b), 2246-2249

Suit HD: Potential for improving survival rates for the cancer patient by increasing the efficiency of treatment of the primary lesion. *Cancer* 50 (1982): 1227-1234

Suit HD, Howes AE, Hunter N: Dependence of response of a C3H mammary carcinoma to fractionated irradiation on fraction number of intertreatment interval. *Radiat. Res.* 72 (1977): 440-454

Suit HD, Sedlacek R, Thames, Silver G, Hsieh CC, Epp ER, Ngo FQH, Roberts WK, Verhey L: Therapeutic gain factors for fractionated radiation treatment of spontaneous murine tumours. *Radiat. Res.* 116 (1988): 482-502

Tenforde TS, Afzal SMJ, Parr SS, Howard J, Lyman JT, Curtis SB: Cell survival in rat rhabdomyosarkoma tumours irradiated in vivo with extended-peak silicon ions. *Radiat. Res.* 92 (1982): 208-216

Terasima R, Tolmach LJ: X-Ray sensitivity and DNA synthesis in synchronous populations of HeLa cells. *Science* 140 (1963): 490-492

Thomlinson RH, Gray LH: The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy. *Br. J. Cancer* 9 (1955): 539-549

Thomlinson RH: Reoxygenation as a function of tumor size and histopathological type. IN: Bond VP, Suit HJ, Marcial V, eds.: *Time and dose relationships in radiation biology as applied to radiotherapy*. Virginia: Springfield (1970): 242-247

Trott KR: Strahlenwirkung auf die Vermehrung von Säugetierzellen. In: Diethelm L, Olsson O, Strnad F, Vieten H, Zuppinger A: eds. *Handbuch der medizinischen Radiologie, Band 2*, Springer-Verlag, Berlin (1972): 43-125

Trott KR, Maciejewski B: The influence of the number of fractions and of overall treatment time on local tumour control and late complication rate in squamous cell carcinoma of the larynx. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 7 (1981): 1260-1268

Tubiana M: The role of local treatment in the cure of cancer. *Eur. J. Cancer* 28A (1992): 2064-2069

Van Houtte P, Balikdjian D, Cantraine F, Henry J: Cancer of the endometrium and radiotherapy. Review of 280 patients treated at the Institut Bordet. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. Paris* 14/1 (1985): 111-19

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

Vogler H, Beck-Bornholdt HP: Radiotherapy of the rhabdomyosarcome R1H of the rat: Kinetics of cellular inactivation by fractionated irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 14 (1988): 317-325

Warren BA: The vascular morphology of tumours. In: Petreson HI, ed. *Tumor Blood Circulation*. Boca Raton, Florida: CRC Press (1979): 1-49

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

Withers HR: Biologic bases for alternated fractionation schedules. *Cancer* 55 (1985): 2086-2095

Withers HR, Taylor JMG, Maciejewski B: The hazard of accelerated tumour clonogen repopulation during radiotherapy. *Acta Oncol.* 27 (1987): 131-146

Withers, H.R, Suwinski, R: Radiation dose response for subclinical metastases. *Sem.-Radiat. Oncol.* 8/3 (1998): 224-228

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

Würschmidt F, Beck-Bornholdt HP, Vogler H: Radiobiology of the rhabdomyosarcoma R1H of the rat: Influence to the size of irradiation field on tumor response, tumor bed effect, and neovascularisation Kinetics. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 18 (1990): 879-882

Würschmidt F, Beck-Bornholdt HP, Vogler H, Jung H: Radiotherapy of the rhabdomyosarcoma R1H of the rat: Split-course versus continuous fractionation. *Strahlenther. Onkol.* 167 (1991): 26-30

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

Zanelli GD, Lucas PB, Fowler JF: The effect of anaesthetics on blood perfusion in transplanted mouse tumours. *Br. J. Cancer* 32 (1975): 380-390

Ziron JO: Einfluß des Zeitpunktes einer Pause auf das Ergebnis einer fraktionierten Bestrahlung des R1H-Tumors der Ratte. *Dissertationsschrift Hamburg* (1996)

Zywietz F: Vascular and cellular damage in a murine tumour during fractionated treatment with radiation and hyperthermia. *Strahlenther. Onkol.* 166 (1990): 493-501

## 8. Anhang

Ergebnisse aus den Experimenten und aus der Auswertung der Wachstumskurven

### Operation mit anschließender postoperativer Bestrahlung

<b>Einzel-</b> <b>dosis</b> (Gy)	<b>Gesamt-</b> <b>dosis</b> (Gy)	<b>Start-</b> <b>volumen</b> (cm <sup>3</sup> )	<b>Status</b>	<b>WV</b> (Tage)	<b>NWV</b> (Tage)	<b>TBE</b> (Tage)
1,2	7,2	1,07	Rezidiv	29	24	5
1,2	7,2	1,72	Kontrolle	-	-	-
1,2	7,2	1,09	Kontrolle	-	-	-
1,2	7,2	1,15	Rezidiv	-	28	-
1,2	7,2	1,42	Rezidiv	-	22	-
1,2	12,0	1,28	Kontrolle	-	-	-
1,2	12,0	1,09	Rezidiv	51	31	20
1,2	12,0	1,08	Rezidiv	53	28	25
1,2	12,0	1,04	Kontrolle	-	-	-
1,2	12,0	1,08	Kontrolle	-	-	-
1,2	12,0	1,16	Rezidiv	33	19	14
1,2	12,0	1,00	Kontrolle	-	-	-
1,2	12,0	1,00	Kontrolle	-	-	-
1,2	24,0	1,02	Metastase	-	-	-
1,2	24,0	1,03	Rezidiv	83	52	31
1,2	24,0	1,19	Kontrolle	-	-	-
1,2	24,0	1,25	Kontrolle	-	-	-
1,2	24,0	1,05	Kontrolle	-	-	-
1,2	24,0	1,35	Kontrolle	-	-	-
1,2	36,0	1,01	Kontrolle	-	-	-
1,2	36,0	0,81	Kontrolle	-	-	-
1,2	36,0	1,05	Kontrolle	-	-	-
1,2	36,0	1,04	Kontrolle	-	-	-

**Operation mit anschließender postoperativer Bestrahlung (Fortsetzung)**

<b>Einzel-</b> <b>dosis</b> (Gy)	<b>Gesamt-</b> <b>dosis</b> (Gy)	<b>Start-</b> <b>volumen</b> (cm <sup>3</sup> )	<b>Status</b>	<b>WV</b> (Tage)	<b>NWV</b> (Tage)	<b>TBE</b> (Tage)
1,2	36,0	1,07	Kontrolle	-	-	-
1,2	36,0	1,03	Kontrolle	-	-	-
1,2	36,0	1,08	Kontrolle	-	-	-
1,2	48,0	1,01	Kontrolle	-	-	-
1,2	48,0	1,29	Kontrolle	-	-	-
1,2	48,0	1,11	Kontrolle	-	-	-
1,2	48,0	1,05	Rezidiv	129	121	8
1,2	48,0	1,04	Kontrolle	-	-	-
1,2	48,0	1,16	Kontrolle	-	-	-
1,2	60,0	1,43	Kontrolle	-	-	-
1,2	60,0	1,00	Kontrolle	-	-	-
1,2	60,0	0,81	Kontrolle	-	-	-
1,2	60,0	1,01	Kontrolle	-	-	-
1,2	60,0	1,04	Kontrolle	-	-	-
2,4	7,2	1,15	Kontrolle	-	-	-
2,4	7,2	1,21	Kontrolle	-	-	-
2,4	7,2	1,35	Metastase	-	-	-
2,4	7,2	1,18	Kontrolle	-	-	-
2,4	7,2	1,12	Kontrolle	-	-	-
2,4	12,0	1,12	Kontrolle	-	-	-
2,4	12,0	0,94	Kontrolle	-	-	-
2,4	12,0	0,97	Rezidiv	63	47	16
2,4	12,0	1,00	Kontrolle	-	-	-
2,4	12,0	1,36	Rezidiv	27	26	1
2,4	12,0	1,10	Kontrolle	-	-	-
2,4	24,0	0,95	Kontrolle	-	-	-
2,4	24,0	1,00	Kontrolle	-	-	-
2,4	24,0	1,11	Kontrolle	-	-	-
2,4	24,0	1,53	Kontrolle	-	-	-
2,4	24,0	1,19	Kontrolle	-	-	-

**Operation mit anschließender postoperativen Bestrahlung (Fortsetzung)**

<b>Einzel-</b> <b>dosis</b> (Gy)	<b>Gesamt-</b> <b>dosis</b> (Gy)	<b>Start-</b> <b>volumen</b> (cm <sup>3</sup> )	<b>Status</b>	<b>WV</b> (Tage)	<b>NWV</b> (Tage)	<b>TBE</b> (Tage)
2,4	24,0	0,88	Kontrolle	-	-	-
2,4	24,0	1,05	Kontrolle	-	-	-
2,4	36,0	0,74	Kontrolle	-	-	-
2,4	36,0	0,99	Kontrolle	-	-	-
2,4	36,0	1,30	Kontrolle	-	-	-
2,4	36,0	1,16	Kontrolle	-	-	-
2,4	36,0	1,11	Kontrolle	-	-	-
2,4	36,0	1,37	Kontrolle	-	-	-
2,4	48,0	1,05	Kontrolle	-	-	-
2,4	48,0	0,92	Kontrolle	-	-	-
2,4	48,0	1,03	Kontrolle	-	-	-
2,4	48,0	1,08	Kontrolle	-	-	-
2,4	48,0	1,31	Kontrolle	-	-	-
2,4	48,0	1,03	Kontrolle	-	-	-
2,4	60,0	1,43	Kontrolle	-	-	-
2,4	60,0	1,15	Kontrolle	-	-	-
2,4	60,0	1,10	Kontrolle	-	-	-
2,4	60,0	1,08	Kontrolle	-	-	-
2,4	60,0	1,16	Kontrolle	-	-	-
2,4	60,0	1,09	Kontrolle	-	-	-
4,0	8,0	1,07	Kontrolle	-	-	-
4,0	8,0	1,26	Kontrolle	-	-	-
4,0	8,0	1,28	Kontrolle	-	-	-
4,0	8,0	1,10	Kontrolle	-	-	-
4,0	8,0	1,04	Kontrolle	-	-	-
4,0	12,0	1,17	Kontrolle	-	-	-
4,0	12,0	1,05	Kontrolle	-	-	-
4,0	12,0	1,13	Kontrolle	-	-	-
4,0	12,0	1,03	Kontrolle	-	-	-
4,0	12,0	1,01	Kontrolle	-	-	-

**Operation mit anschließender postoperativer Bestrahlung (Fortsetzung)**

<b>Einzel-</b> <b>dosis</b> (Gy)	<b>Gesamt-</b> <b>dosis</b> (Gy)	<b>Start-</b> <b>volumen</b> (cm <sup>3</sup> )	<b>Status</b>	<b>WV</b> (Tage)	<b>NWV</b> (Tage)	<b>TBE</b> (Tage)
4,0	12,0	1,61	Kontrolle	-	-	-
4,0	12,0	1,02	Kontrolle	-	-	-
4,0	24,0	1,13	Rezidiv	60	16	44
4,0	24,0	0,92	Kontrolle	-	-	-
4,0	24,0	1,04	Kontrolle	-	-	-
4,0	24,0	1,19	Kontrolle	-	-	-
4,0	24,0	1,30	Kontrolle	-	-	-
4,0	24,0	1,79	Kontrolle	-	-	-
4,0	36,0	1,47	Rezidiv	85	64	21
4,0	36,0	1,56	Kontrolle	-	-	-
4,0	36,0	1,07	Kontrolle	-	-	-
4,0	36,0	1,05	Kontrolle	-	-	-
4,0	36,0	1,06	Kontrolle	-	-	-
4,0	36,0	1,15	Kontrolle	-	-	-
4,0	36,0	1,06	Kontrolle	-	-	-
4,0	48,0	1,86	Kontrolle	-	-	-
4,0	48,0	1,07	Kontrolle	-	-	-
4,0	48,0	1,17	Kontrolle	-	-	-
4,0	48,0	0,99	Metastase	-	-	-
4,0	48,0	1,35	Kontrolle	-	-	-
4,0	48,0	1,14	Kontrolle	-	-	-
4,0	60,0	1,05	Kontrolle	-	-	-
4,0	60,0	1,12	Kontrolle	-	-	-
4,0	60,0	1,15	Kontrolle	-	-	-
4,0	60,0	1,02	Kontrolle	-	-	-
4,0	60,0	1,03	Kontrolle	-	-	-
4,0	60,0	1,14	Kontrolle	-	-	-

## alleinige Bestrahlung

<b>Einzel-</b> <b>dosis</b> (Gy)	<b>Gesamt-</b> <b>dosis</b> (Gy)	<b>Start-</b> <b>volumen</b> (cm <sup>3</sup> )	<b>Status</b>	<b>WV</b> (Tage)	<b>NWV</b> (Tage)	<b>TBE</b> (Tage)
2,4	40,8	1,26	Rezidiv	48	44	4
2,4	40,8	1,06	Rezidiv	54	43	11
2,4	40,8	1,01	Rezidiv	41	43	0
2,4	40,8	1,09	Rezidiv	44	42	2
2,4	40,8	1,20	Rezidiv	42	32	10
2,4	62,4	1,08	Rezidiv	69	48	21
2,4	62,4	1,12	Rezidiv	120	73	47
2,4	62,4	1,10	Kontrolle	-	-	-
2,4	62,4	0,98	Rezidiv	102	70	32
2,4	62,4	1,24	Rezidiv	96	65	31
2,4	62,4	1,03	Rezidiv	-	74	-
2,4	69,6	1,48	Rezidiv	72	71	1
2,4	69,6	0,76	Kontrolle	-	-	-
2,4	69,6	1,19	Rezidiv	131	83	48
2,4	69,6	1,22	Metastase	-	-	-
2,4	69,6	1,01	Kontrolle	-	-	-
2,4	69,6	0,99	Rezidiv	113	77	36
2,4	76,8	1,02	Rezidiv	-	74	-
2,4	76,8	1,03	Rezidiv	97	67	30
2,4	76,8	1,21	Rezidiv	-	110	-
2,4	76,8	1,22	Kontrolle	-	-	-
2,4	76,8	1,01	Kontrolle	-	-	-
2,4	76,8	1,51	Metastase	-	-	-
2,4	84,0	0,96	Kontrolle	-	-	-
2,4	84,0	0,89	Metastase	-	-	-
2,4	84,0	1,20	Kontrolle	-	-	-
2,4	84,0	0,95	Kontrolle	-	-	-
2,4	84,0	1,04	Kontrolle	-	-	-
2,4	84,0	1,00	Kontrolle	-	-	-
2,4	91,2	1,98	Kontrolle	-	-	-

**alleinige Bestrahlung (Fortsetzung)**

<b>Einzel- (Gy)</b>	<b>Gesamt- (Gy)</b>	<b>Start- (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>Status</b>	<b>WV (Tage)</b>	<b>NWV (Tage)</b>	<b>TBE (Tage)</b>
2,4	91,2	0,94	Kontrolle	-	-	-
2,4	91,2	1,06	Rezidiv	-	114	-
2,4	91,2	1,39	Kontrolle	-	-	-
2,4	91,2	1,11	Kontrolle	-	-	-
2,4	91,2	1,51	Kontrolle	-	-	-

**Operation alleine ohne postoperative Bestrahlung**

<b>Einzel- dosis (Gy)</b>	<b>Gesamt- dosis (Gy)</b>	<b>Start- volumen (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>Status</b>	<b>WV (Tage)</b>	<b>NWV (Tage)</b>	<b>TBE (Tage)</b>
0,0	0,0	1,97	Kontrolle	-	-	-
0,0	0,0	1,80	Kontrolle	-	-	-
0,0	0,0	1,00	Rezidiv	28	22	6
0,0	0,0	0,97	Kontrolle	-	-	-
0,0	0,0	0,88	Kontrolle	-	-	-
0,0	0,0	1,08	Kontrolle	-	-	-
0,0	0,0	1,15	Kontrolle	-	-	-
0,0	0,0	0,92	Rezidiv	11	21	0
0,0	0,0	1,10	Kontrolle	-	-	-
0,0	0,0	1,07	Kontrolle	-	-	-
0,0	0,0	1,77	Kontrolle	-	-	-
0,0	0,0	1,17	Rezidiv	27	24	3
0,0	0,0	0,84	Kontrolle	-	-	-
0,0	0,0	1,19	Kontrolle	-	-	-

Danksagung

Allen Mitarbeitern des Instituts für Biophysik und Strahlenbiologie der Universität Hamburg möchte ich herzlich für die vielfältige Unterstützung und die zahlreichen Anregungen, die zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben, danken. Insbesondere Frau Dr. Annette Raabe und Herrn Professor Dr. Hans-Peter Beck-Bornholdt gilt mein Dank für die umsichtige Betreuung. Des weiteren danke ich Herrn Professor Dr. Jens Bahnsen und Frau Maria Omniczynski, die mir mit ihrer freundlichen Unterstützung bei dieser Dissertation zur Seite standen.

## **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 entnommenen 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.

Hamburg, den 08. Juli 2001

## Lebenslauf

Name:	Philipp Roger Maurer
Geburtsdatum:	13.03.1970
Geburtsort:	Hamburg
1976 – 1980	Besuch der Grundschule Wentorf
1980 – 1989	Besuch des Gymnasiums Wentorf, Abschluss: Abitur
Juli 1989 - Sept. 1990	Zivildienst im Berufsgenossenschaftlichen Unfallkrankenhaus Hamburg, Querschnittgelähmtenzentrum
April 1991- August 1997	Studium der Zahnmedizin an der Universität Hamburg
29.08. 1997	Approbation als Zahnarzt
Herbst 1997	Beginn der Dissertation am Institut für Biophysik und Strahlenbiologie der Universität Hamburg
April 1998 - März 2000	Ausbildungsassistent in der Zahnarztpraxis Dr. Peter Loewen in Hamburg – Neuengamme
seit Mai 2000	niedergelassener Zahnarzt in eigener Praxis in Hamburg – Reitbrook