

Effekte von Fraktionierung und Dosisleistung bei der PDR-Brachytherapie von B14-Zellen

L. Keilholz¹, M. H. Seegenschmiedt¹, M. Lotter³, R. Schulz-Wendtland², J. von Erffa¹, S. Pflüger², R. Sauer¹

¹Strahlentherapeutische Klinik (Direktor: Prof. Dr. R. Sauer), ²Frauenklinik, ³Institut für Medizinische Physik der Universität Erlangen-Nürnberg

Ziel: Bisherige Untersuchungen an verschiedenen Zelllinien zeigen eine biologische Äquivalenz von kontinuierlicher Low-dose-rate-Brachytherapie (LDR-BT) und Bestrahlungen im Pulsed-dose-rate-Verfahren (PDR-BT) bei Verwendung kleiner Pulsdosen. Ziel dieser Untersuchung war es, unter praxisnahen Bedingungen in einem In-vitro-Modell die biologischen Effekte von unterschiedlichen Pulsdosen und „Pulsdosisleistungen“ bei der PDR-BT zu untersuchen.

Material und Methode: Verwendung fanden Zellen der Linie Hy B14 FAF 28, peritoneale Fibroblasten des chinesischen Hamsters (B14-Zellen) mit einer Verdopplungszeit von 12 bis 14 h. Diese wurden in einem Abstand von 9 mm zur Strahlenquelle im PDR-Verfahren bestrahlt. Die Pulsdosen betragen 1 Gy, 2,5 Gy und 5 Gy, die Gesamtdosis 5 Gy/5 h, 10 Gy/10 h, 20 Gy/20 h und 30 Gy/30 h bei einer Dosisleistung während des Pulses von 200 bis 300 cGy/h. Der Dosisleistungseffekt wurde bei 1 Gy/Puls und einer Gesamtdosis von 20 Gy durchgeführt, die in einer Behandlungszeit von 20 h eingestrahlt wurden. Die Pulsdauern betragen 20 min, 30 min oder 52 min entsprechend einer Pulsdosisleistung von 300 cGy/h, 200 cGy/h oder 115 cGy/h. Erfasst wurde das Zellüberleben im Vitalfärbetest sowie im Koloniebildungstest.

Ergebnisse: Im Bereich von 200 bis 300 cGy/h war die biologische Wirkung der Pulsdosis 5 Gy größer als nach 1 Gy bzw. 2,5 Gy/Puls. Die Veränderung der Pulsdosisleistung von 300 cGy/h auf 200 cGy/h oder 115 cGy/h ließ bei 20 Pulsen von je 1 Gy keine Unterschiede in der biologischen Wirkung erkennen.

Schlußfolgerung: Die radiobiologischen Effekte bei der Brachytherapie im PDR-Verfahren sind abhängig von der Dosis pro Puls. Die Unterschiede konnten bei dem hier verwendeten Versuchsaufbau erst bei einer Pulsdosis von mehr als 2,5 Gy nachgewiesen werden.

Schlüsselwörter: Pulsed dose rate (PDR) · Gepulste Brachytherapie · Dosisleistungseffekte · Fraktionierungseffekte · In-vitro-Experimente

Effects of Fractionation and Dose Rate in PDR-Brachytherapy of B14-Fibroblasts

Purpose: Present radiobiological studies for different cell lines in vitro demonstrate the equivalence and efficacy of continuous low-dose-rate brachytherapy (LDR-BT) and pulsed dose rate brachytherapy (PDR-BT) when using small and frequent dose pulses. The aim of this study was to examine monolayer fibroblast cultures in vitro to examine the biological effects of different pulse doses and dose rates under clinically conditions.

Material and Methods: B14 cells, Hy B14 FAF 28, peritoneal fibroblasts, were cultured in multi-well plates and exposed to a PDR radiation source at a distance of 9 mm. The following PDR-schemes were compared: dose per pulse: 1 Gy, 2.5 Gy and 5 Gy to a total dose of 5 Gy/5 h (overall time), 10 Gy/10 h, 20 Gy/20 h and 30 Gy/30 h. The pulse duration for the examination of dose rate effects was 20 min, 30 min or 52 min corresponding to a pulse dose rate of 300 cGy/h, 200 cGy/h or 115 cGy/h. Treatment endpoints were cell survival measured by dye exclusion test and clonogenic cell survival.

Results: Cell survival decreased for pulse doses of 5 Gy compared to 2.5 Gy or 1 Gy per pulse (mean dose rate 200 to 300 cGy/h). No differences were observed with dose rates during irradiation of 300 cGy/h, 200 cGy/h or 115 cGy/h (20 Gy/1 Gy).

Conclusion: Radiobiological effects of PDR-BT are dependent on the dose per pulse, with differences in biological effects only with a dose per pulse of more than 2.5 Gy, considering the described in-vitro conditions. More examinations with a more pronounced difference in dose rate will be continued for evaluation of dose rate effects.

Key Words: Pulsed dose rate (PDR) · Pulsed brachytherapy · Dose rate effects · Fractionation effects · In-vitro experiments

Vorgetragen beim 2. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Radioonkologie, 16. – 19. 11. 1996, Baden-Baden

Eingang des Manuskripts: 4. 11. 1996.

Annahme des Manuskripts: 20. 5. 1997.

Bisherige radiobiologische Rechenmodelle [1, 6] wie auch In-vitro- oder In-vivo-Untersuchungen [2, 5, 8, 12] zeigen eine biologische Äquivalenz einer kontinuierlichen Low-dose-rate-Brachytherapie (LDR-BT) bei kleinen Dosisleistungen und einer hochfraktionierten Kontaktbestrahlung im Pulsed-dose-rate-Verfahren (PDR-BT) im mittleren Dosisleistungsbereich. Voraussetzung ist jedoch, daß bei der PDR-BT die Gesamtdosis mit kleinen Pulsdosen und in derselben Gesamtbehandlungszeit eingestrahlt wird. Bei den meisten Experimenten wurden die PDR-Bestrahlungen mit einer externen Strahlenquelle (zum Beispiel Kobalt 60) durchgeführt [2, 12]. Nur wenige Arbeitsgruppen versuchten, den Dosisleistungsgradienten, der entlang eines Quellenfahrweges auftritt, nachzuvollziehen [8]. Unser Ziel war es, unter praxisnahen Bedingungen eine interstitielle PDR-BT zu simulieren und Fraktionierungs- und Dosisleistungseffekte bei kleinen Pulsdosen in einem In-vitro-System zu untersuchen.

Material und Methode

1. Zellkultur

Wir wählten Zellen der Linie Hy B14 FAF 28, peritoneale Fibroblasten des chinesischen Hamsters (kurz B14-Zellen) mit einer Verdopplungszeit von 12 bis 14 h. Die Zelllinie bildet typische Monolayer bei 37 °C im CO₂-Inkubator (5%). Die Zellen wurden in Multiwell-Schalen ausgesät und mit Kulturmedium (Eagle's Minimal Essential Medium) mit einem 10%igem Volumenanteil an New Born Calf Serum überschichtet ohne Zusatz von Antibiotika. Der pH wurde mit Natriumhydrogenkarbonat auf 7,4 eingestellt.

2. Versuchsaufbau

In jede Vertiefung der Multiwell-Schalen wurden 160000 Zellen eingesetzt, die nach einer Ruhephase von 5 h im Inkubator bestrahlt wurden. Die Bestrahlung der Zellen erfolgte in einer speziellen Haltevorrichtung, in der 13 Stahlkanülen mit einer Länge von 20 cm parallel in einem Abstand von 10 mm angeordnet sind. Die Zellschalen waren so in der Halterung fixiert, daß der Abstand von der Nadelmittle zum Boden der Zellmonolayer 9 mm betrug. Mit Hilfe eines PDR-Afterloadinggerätes (microSelectron, Nucletron, Oldelft) wurde eine Ir-192-Linienquelle sequentiell in die Stahlkanülen eingefahren. Zur Variation der Pulsdosisleistung, die als Pulsdosis pro Einstrahlzeit definiert werden soll, erfolgten die Versuche mit einer frischen Quelle (maximale Aktivität 34 Gbq)

und einer abgeklungenen Quelle (Aktivität 12 Gbq). Die Dosisverteilung wurde mit dem Planungssystem Plato-BPS (Nucletron, Oldelft) berechnet und mit Fricke-Dosimetrie überprüft.

3. Versuchsauswertung

Vitalfärbetest: Am Ende des Versuches sollte die Zellzahl mit Hilfe einer Zählkammer nach Neubauer erstmals innerhalb von 2 bis 3 h nach Bestrahlungsende bestimmt werden. Gezählt wurden nur die vitalen Zellen im Vitalfärbetest mit Trypanblau. Die Bestimmung der Zellzahl erfolgte an den Tagen 1, 2, 3, 4, 6, 8 nach Ende der Radiotherapie im Abstand von jeweils 24 bzw. 48 h.

Koloniebildungstest: Eine bestimmte Anzahl von Zellen wurde 5 h vor jedem Bestrahlungsversuch in einer eigenen Versuchsserie zum Koloniebildungstest ausplattiert. Dieser Versuchsaufbau wurde bewußt so gewählt, um eine Beeinflussung der Testmethode durch eine weitere Trypsinierung nach erfolgter Radiotherapie zu vermeiden. Dabei mußten zwei Variable, Dosis und Gesamtbehandlungszeit, berücksichtigt werden (siehe Diskussion).

In einer Vorserie sollten sechs Verdünnungsstufen angesetzt werden mit dem Ziel, die Anzahl der einzusetzenden Zellen zu finden, bei der nach Bestrahlung jeweils etwa 40 Kolonien gezählt werden konnten [13]. Eine Kolonie mußte dabei mindestens 50 Zellen enthalten [15]. Die Auswertung des Koloniebildungstestes erfolgte am Tag 8 nach Ende der Radiotherapie mit Fixation und Färbung der Kolonien (Alkohol/Methylenblau), die Auszählung dann innerhalb einer Woche unter einem Stereomikroskop. Zu jedem Einzelversuch wurde eine Kontrolle mitgeführt, die unter gleichen Umgebungsbedingungen, einschließlich der Transporte, gehalten wurden. Die „plating efficiency“ lag bei 75 bis 85%.

Den Ergebnissen für ein Experiment liegen mindestens drei unabhängige Versuche zugrunde.

4. Bestrahlungen

Bezogen auf die Fragestellung, wurden zwei Bestrahlungsserien durchgeführt.

Einfluß der Pulsdosisleistung: Innerhalb einer Gesamtbehandlungszeit von T = 20 h wurde eine Gesamtdosis von 20 Gy mit Pulsdosen von 1 Gy bei einer Inter-

Gesamtbehandlungszeit T	20 h	20 h	20 h
Gesamtdosis	20 Gy	20 Gy	20 Gy
Pulsdosis	1 Gy	1 Gy	1 Gy
Pulswiederholung	60 min	60 min	60 min
Pulsdauer	20 min	30 min	52 min
Pulsdosisleistung	300 cGy/h	200 cGy/h	115 cGy/h

Tabelle 1. Bestrahlungsparameter bei der Untersuchung zum Einfluß der Pulsdosisleistung.

Table 1. RT-parameter, regarding the impact of pulse width.

vallzeit zwischen den Pulsen von 60 min eingestrahlt. Abhängig von der Aktivität der Quelle, betrug die Pulsdauer 20, 30 oder 52 min. Dies entspricht einer Variation der Pulsdosisleistung zwischen 115 cGy/h und 300 cGy/h (Tabelle 1).

Fraktionierungseffekte: Innerhalb verschiedener Gesamtbehandlungszeiten von 5, 10, 20 und 30 h wurden Gesamtdosen von 5, 10, 20 und 30 Gy mit verschiedenen Pulsdosen von 1, 2,5 und 5 Gy eingestrahlt. Abhängig von den Pulsdosen und der Quellenaktivität, wurde die Gesamtdauer der Pulse so angepaßt, daß man eine mittlere Pulsdauer von 20 bis 30 min/1 Gy, entsprechend einer mittleren Pulsdosisleistung von 200 bis 300 cGy/h, erhielt.

Die Pulse wurden gleichverteilt über die Gesamtzeit appliziert, so daß sich Periodendauern von 1, 2,5 und 5 h ergaben (Tabelle 2).

Ergebnisse

Dosisleistungseffekte: Nach einer Dosis von 20 Gy mit Pulsdosen von 1 Gy, die über 20 h mit Pulsdauern

von 20 min, 30 min oder 52 min eingestrahlt wurden, sahen wir im Bereich von 115 cGy/h bis 300 cGy/h keinen signifikanten Unterschied im Zellüberleben (Tabelle 3). Bei den gewählten Bestrahlungsparametern, insbesondere auch für eine Gesamtdosis von 20 Gy, scheint kein Dosisleistungseffekt der Pulse zu bestehen.

Fraktionierungseffekte: Bei allen Versuchen zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der biologischen Wirkung zwischen 1 und 2,5 Gy pro Puls. Dagegen hatten 5 Gy pro Puls, abhängig von der Gesamtdosis, einen größeren biologischen Effekt: Nach einer Gesamtdosis von 5 Gy zeigt sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich zur unbestrahlten Kontrolle beziehungsweise hinsichtlich der verschiedenen Pulsdosen (Abbildung 1a). Nach einer Gesamtdosis von 10 Gy kann ein geringer Unterschied zwischen 1 Gy und 5 Gy Pulsdosis bzw. 2,5 und 5 Gy beobachtet werden (Abbildung 1b). Der Bestrahlungseffekt zwischen Tag 1 und 3 war bei 5 Gy pro Puls deutlicher als bei 1 Gy oder 2,5 Gy/Puls. Die anfänglich geringere Proliferation bei 5 Gy/Puls ist jedoch ab Tag 4 nicht mehr zu erkennen. Nach einer Gesamtdosis von 20 Gy ist der Anstieg der Zellzahl (Tag 1 bis 2) nach 5 Gy/Puls deutlich geringer als der nach 1 Gy oder 2,5 Gy/Puls (Abbildung 1c), und die Zahl vitaler Zellen liegt bei der Pulsdosis von 5 Gy bis zum Tag 6 unter denen von 1 Gy oder 2,5 Gy. Die Differenz ist nach dem U-Test für unverbundene Stichproben signifikant ($p < 0,05$). Zusätzlich zeigt sich ein eindeutiger Dosisseffekt – die Zellzahl sinkt bereits zwischen Tag 2 und 3 auf Werte, die deutlich niedriger sind als bei einer Gesamtdosis von 10 Gy. Nach der Bestrahlung von 30 Gy wird die

Gesamtbehandlungszeit	5 h	10 h	20 h	30 h
Gesamtdosis	5 Gy	10 Gy	20 Gy	30 Gy
Pulsdosen (Gy)	1/2,5/5	1/2,5/5	1/2,5/5	1/2,5/5
Pulswiederholung (h)	1/2,5/5	1/2,5/5	1/2,5/5	1/2,5/5
Mittlere Pulsdauer/1Gy	20–30 min	20–30 min	20–30 min	20–30 min
Dosisleistung im Puls (cGy/h)	200–300	200–300	200–300	200–300

Tabelle 2. Bestrahlungsparameter zur Untersuchung zum Einfluß der Pulsdosis.

Table 2. RT-parameter, regarding the impact of dose per pulse.

Pulsdauer	20 min	30 min	52 min
Zellüberleben	357000 ± 87000	417000 ± 40000	483000 ± 47000
Vitalfärbetest (Tag 8 pRT)			
Zellüberleben	2,16 ± 0,04 %	2,29 ± 0,09 %	2,43 ± 0,06 %
Koloniebildungstest (Tag 8 pRT)			

Tabelle 3. Zellüberleben nach einer Gesamtdosis von 20 Gy, Pulsdosis 1 Gy, stündliche Pulswiederholung im Vitalfärbetest (Mittelwert der Absolutzahlen ± 1 SD) und Koloniebildungstest (Mittelwert in % ± 1 SD) nach Pulsdauern von 20, 30 und 52 min. Die Unterschiede sind nicht signifikant.

Table 3. Effect of pulse width on clonogenic cell survival and dye exclusion test; total dose 20 Gy, dose per pulse 1 Gy, pulse width 20, 30 or 52 min. The cell survival differences were statistically not significant ($p > 0.05$) (mean ± SD).

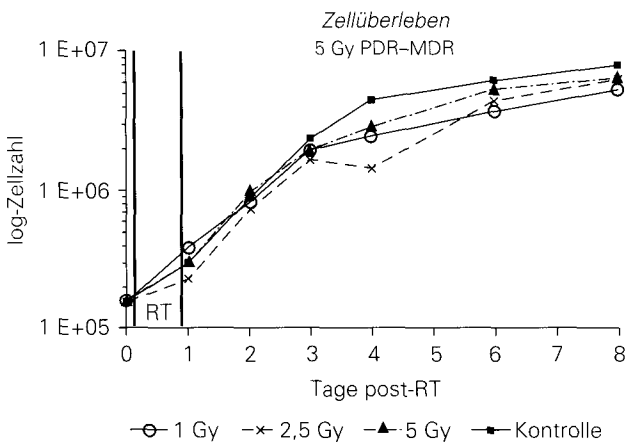


Abbildung 1a - Figure 1a

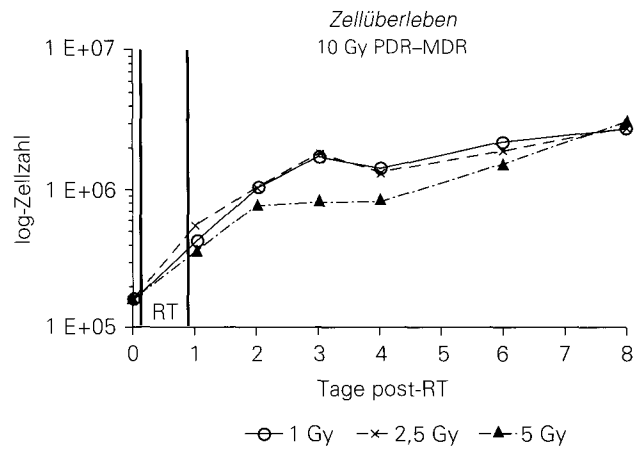


Abbildung 1b - Figure 1b

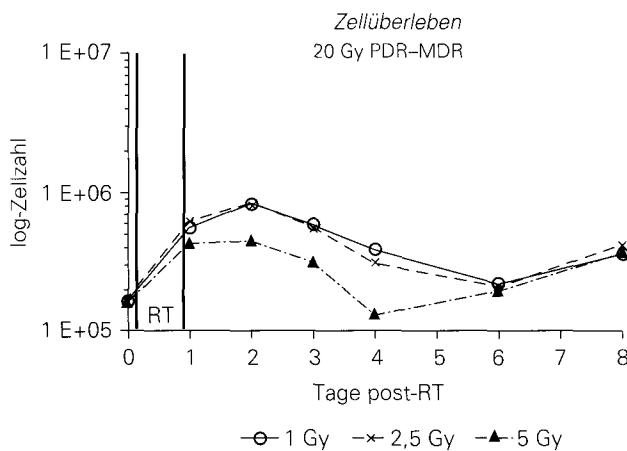


Abbildung 1c - Figure 1c

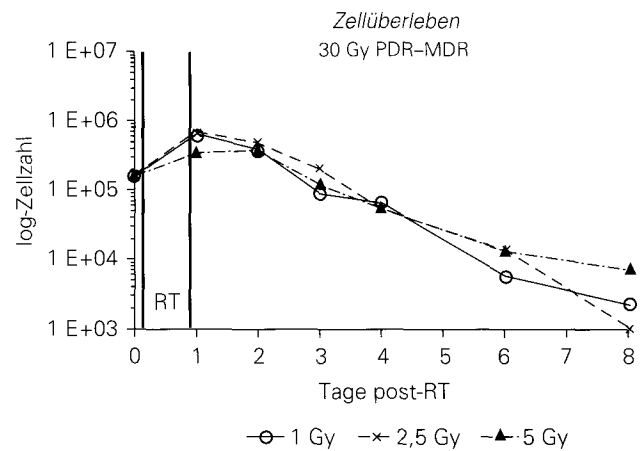


Abbildung 1d - Figure 1d

Abbildungen 1a bis 1d. Zahl vitaler B14-Zellen (Vitalfärbetest mit Trypanblau) nach einer PDR-BT (MDR) mit einer Gesamtdosis von a) 5 Gy/5 h; b) 10 Gy/10 h; c) 20 Gy/20 h; d) 30 Gy/30 h (jeweils 1, 2,5 und 5 Gy pro Puls).

Figures 1a to 1d. Number of surviving B14-cells (dye exclusion test) after PDR-BT (MDR); total dose a) 5 Gy/5 h; b) 10 Gy/10 h; c) 20 Gy/20 h; or d) 30 Gy/30 h; dose per pulse 1, 2.5 or 5 Gy.

Anzahl überlebender Zellen in erster Linie von der Gesamtdosis bestimmt (Abbildung 1d). Jedoch ist der verzögerte Anstieg der Zellzahl bei 5 Gy/Puls wieder angedeutet. Nach 30 Gy ist bis einschließlich Nachbeobachtungstag 8 nach Radiotherapie keine Tendenz zu erneutem Zellwachstum zu erkennen.

Die Ergebnisse des Koloniebildungstests unterstützen die Beobachtungen im Vitalfärbetest (Abbildung 2). Zwischen 1 und 2,5 Gy/Puls ist kein Unterschied im Zellüberleben zu erkennen. Pulsdosen von 5 Gy zeigen einen Unterschied zu 1 Gy oder 2,5 Gy/Puls.

Diskussion

Die in vitro kultivierten B14-Zellen können aufgrund ihrer kurzen Verdopplungszeit von 12 bis 14 h in erster Näherung als Modell für die proliferierende Zell-

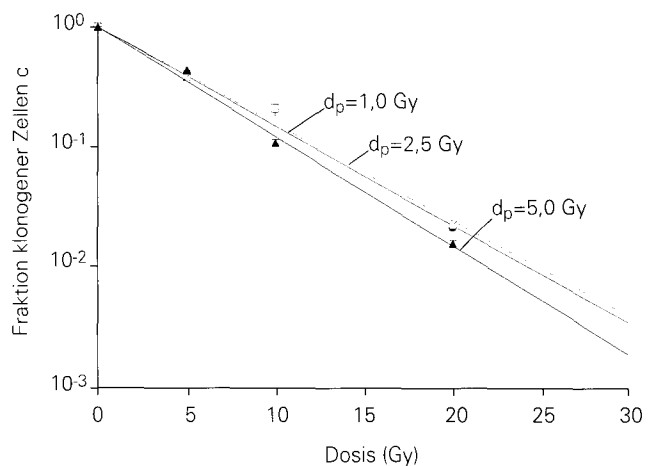


Abbildung 2. Dosis-Effekt-Kurven einer PDR-BT (MDR) in vitro bei Pulsdosen von 1 Gy, 2,5 Gy und 5 Gy bis zu einer Gesamtdosis von 5 Gy in 5 h, 10 Gy in 10 h, 20 Gy in 20 h.

Figure 2. Clonogenic cell survival: PDR-BT (MDR); dose per pulse 1 Gy, 2.5 Gy or 5 Gy; total dose 5 Gy/5 h or 10 Gy/10 h or 20 Gy/20 h.

fraktion eines akut reagierenden Normalgewebes betrachtet werden, jedoch ist das Zellmodell mit einem menschlichen Gewebe nur sehr begrenzt zu vergleichen [4]. Trotzdem kann es wichtige Anhaltspunkte liefern, in welchen Bereichen die Änderung der Pulsdosis und der Dosisleistung zu entscheidenden Veränderungen der biologischen Effektivität führen könnte.

Unsere Ergebnisse weisen auf einen Fraktionierungseffekt hin, der bei einer gewählten mittleren Dosisleistung von 200 bis 300 cGy/h erst bei einer Erhöhung der Pulsdosis von 1 Gy auf mehr als 2,5 Gy zu erkennen ist. Der Unterschied stellt sich im Vitalfärbetest allerdings nur in den ersten vier Tagen dar und könnte durch eine Proliferationshemmung zu erklären sein. Bei den sich in Proliferation befindlichen Zellen dürfte es sich jedoch überwiegend um nicht klonogene Zellen handeln, die nach zwei bis drei Zellzyklen (etwa 48 h nach Radiotherapie) die Zellteilung einstellen [11]. Auch zeigt das Überleben klonogener Zellen im Koloniebildungstest nach Pulsdosen von 1 Gy im Vergleich zu 5 Gy nur leichte Unterschiede.

Der bereits beschriebene Versuchsaufbau variiert allerdings zwei Variable: Dosis und Gesamtbehandlungszeit. Diese Problematik wurde bewußt in Kauf genommen, da in der Versuchsserie Bestrahlungseffekte untersucht und die Ergebnisse nicht durch eine zusätzliche Trypsinierung nach erfolgter Brachytherapie verfälscht werden sollten. Dabei kann für die Ergebnisse des Farbausflußtestes (Zahl vitaler Zellen im zeitlichen Verlauf) festgestellt werden, daß nur jeweils Versuche mit gleicher Gesamtdosis/Gesamtbehandlungszeit miteinander verglichen wurden (Abbildungen 1a bis 1d). Bei dem Koloniebildungstest wurden für jede Pulsdosis jedoch alle Gesamtdosen mit unterschiedlichen Gesamtbehandlungszeiten aufgezeichnet. Hierzu ist anzumerken, daß zwischen Aussaat der Zellen und Beginn der Bestrahlungen (5 h) die Zellen am Boden der Versuchsschalen so adhärent waren, daß eine ungewollte „Verschleppung“ von Zellen (Töchterkolonien) durch den Transport nicht zu beobachten war. Gleichzeitig betrug die Zellzahl jeder Kolonie, auch bei den höheren Gesamtdosen, deutlich mehr als 100, so daß durch eine unterschiedliche Versuchsdauer (maximal 15 h Differenz bei acht bis neun Tagen Gesamtdauer der Versuche) eine Fehlinterpretation der Gesamtkurve unwahrscheinlich ist. „Grenzwertige“ Koloniengrößen (zwischen 50 und 100 Zellen), die das Ergebnis hätten beeinflussen können, waren nicht zu beobachten.

Zudem sind die Einzelwerte der Kurven bei gleicher Gesamtdosis/Versuchsdauer zwischen den einzelnen Pulsdosen ohne Probleme zu vergleichen.

Unsere Beobachtungen stehen im Einklang zu radiobiologischen Überlegungen von Fowler u. Mount [6], die bei einer Dosisleistung im Bereich von 200 bis 300 cGy, und einer Repairkapazität $T_{1/2} < 30$ min zwischen Pulsdosen von 0,5 und 2,0 Gy eine Differenz der biologischen Effektivität von weniger als 10% errechneten. Auch Erickson u. Shadley [5] konnten in ihrem In-vitro Modell (Tumorzellen: SCC VII) keinen signifikanten Unterschied zwischen unterschiedlichen PDR-Schemata mit Pulsdosen von 1,12 und 2,24 Gy (Dosisleistung 11,2 cGy/min, Gesamtdosis 15,7 Gy) nachweisen. Zudem war auch der Unterschied zwischen den Dosisleistungen von 5,6 cGy/min bis 22,4 cGy/min (Pulsdosis 1,12 Gy) nicht signifikant.

Unsere Arbeitsgruppe konnte in früheren In-vitro-Experimenten an Ca-Ski- und HPK-Zellen [16] einen deutlichen Fraktionierungseffekt im Dosisleistungsbereich von 300 cG/h aufzeigen (Fraktionsdosen 2,5 Gy, 5 Gy, 10 Gy – Gesamtdosis 30 Gy). Allerdings betrug das Fraktionsintervall 72 h, so daß diese Experimente keine PDR-BT im eigentlichen Sinn repräsentieren. Obwohl die genannten Zellmodelle (Tumorzellen SCC VII und Ca-Ski) mit unserem In-vitro-Modell nicht direkt zu vergleichen sind, läßt sich aus den Daten der Schluß ableiten, daß die Unterschiede der biologischen Effektivität von kleinen Einzeldosen (1 bis 2,5 Gy) im Dosisleistungsbereich von 200 cGy/h bis 300 cGy/h (Pulswiederholung alle 1 bis 2,5 h) zumindest so gering sind, daß sie in In-vitro-Modellen mit schnell proliferierenden Zellen nicht mehr eindeutig nachweisbar sind.

Die Arbeitsgruppe Fritz et al. [8] zeigte die Isoeffektivität einer kontinuierlicher LDR-BT und einer PDR-BT (V79-Fibroblasten). Sie wiesen einen Dosisleistungseffekt im Bereich von 10,8 bis 12,7 Gy/h (Pulsdauer von 4,4 bis 5,2 min/0,95 Gy pro Puls) und 1,64 bis 1,85 Gy/h (Pulsdauer 30,5 bis 34,5 min) nach. Die Unterschiede in der Dosisleistung waren jedoch deutlich größer als in unseren Experimenten (115 bis 300 cGy/h). Zudem fanden die Autoren einen inversen Fraktionierungseffekt bei den Monolayer-Kulturen, das heißt, Pulsdosen von 0,94 Gy/h zeigten eine höhere biologische Effektivität als Pulsdosen von 3,76 Gy/4 h. Sie erklärten den Effekt mit einer G2-Akkumulation der Monolayer bei kleiner HDR-Pulsdosis.

Voraussetzung für eine Akkumulation ist jedoch eine Zelllinie mit hoher Proliferationsaktivität. Offensichtlich sind verschiedene Zelllinien wegen ihrer unterschiedlichen Proliferations- oder Repairkapazität nicht direkt miteinander vergleichbar.

In unserem Experiment bestand nur ein Fraktionierungseffekt zwischen 1 und 5 Gy/Puls bzw. 2,5 und 5 Gy/Puls, eine Beobachtung, die dem radiobiologischen Modell von Pop et al. [14] nahekommt. Diese Arbeitsgruppe fand, daß bei akut reagierenden Geweben (a/b: 10 Gy Repair T1/2 < 0,5 h) nur geringe Unterschiede in der biologischen Effektivität bestehen zwischen den Fraktionierungsschemata von 48 Gy/1,4 Gy (PDR: 3 Gy/h) und 18 Gy/3,1 Gy (HDR). Der Vorteil einer Erhöhung der Pulsdosis hätte im klinischen Einsatz den Vorteil, daß Patienten besser und leichter in den längeren Pulspausen versorgt werden könnten. Nach unseren Experimenten ist die Grenze der maximalen Pulsdosis bei etwa 2,5 Gy anzusetzen, wenn gleiche biologische Effektivität angestrebt wird.

In-vivo-Experimente, wie das von Mason et al. [12] an Stammzellen der Jejunumschleimhaut, zeigten keinen Unterschied zwischen kontinuierlicher LDR-Bestrahlung und PDR-BT. Das Zellüberleben im Mikrokolonietest nach Withers u. Elkind [17] war bei der kontinuierlichen LDR-Bestrahlung (0,70 Gy/h bis 25,90 bis 39,96 Gy in 37 bis 57 h) gleich der gepulsten Bestrahlung mit 0,7 Gy/Puls (stündliche Pulswiederholung, Pulsdosisleistung 4,2 Gy/h). Zudem zeigten sich nur geringe Unterschiede in der biologischen Effektivität durch Erhöhung der Pulsdosisleistung auf 42 Gy/h (stündliche Pulswiederholung). Die Pulsdosisleistung (Pulsdauer) scheint somit bei kleinen Pulsdosen, zumindest bei akut reagierenden Geweben, eine nur untergeordnete Rolle zu spielen.

Zu einem ähnlichen Schluß kommt auch die Arbeitsgruppe Brock et al. [3] an der Meerschweinchenhaut. Sie verglichen eine kontinuierliche LDR-Bestrahlung (0,5 Gy/h Gesamtdosis 30 Gy in 60 h) mit zwei PDR-Regimen (1: Pulsdosis 0,5 Gy, stündliche Wiederholung, und 2: Pulsdosis 0,8 Gy, stündliche Wiederholung mit nächtlicher Pause von 9 h – jeweils Gesamtdosis 30 Gy und Pulsdosisleistung 300 cGy/h). Sowohl hinsichtlich Früh- als auch Spätveränderungen an der Haut waren keine signifikanten Unterschiede zwischen der kontinuierlichen LDR-Therapie und den PDR-Regimen zu beobachten.

Brenner et al. [2] untersuchten die Kataraktbildung an der Linse von Ratten, einem spät reagierendem Gewebe. Die Arbeitsgruppe verglich eine kontinuierliche LDR-Radiotherapie (0,62 Gy/h bis 15 Gy in 24 h) mit drei verschiedenen PDR-Schemata (Schema I: Pulsdosis 0,62 Gy, stündliche Pulswiederholung, Pulsdosisleistung 360 cGy/h; Schema II: Pulsdosis 2,48 Gy, Wiederholung alle 4 h, Pulsdosisleistung 12,9 Gy/h; Schema III: Pulsdosis 0,62 Gy, stündliche Wiederholung, Pulsdosisleistung 21,6 Gy/h). Es waren keine Unterschiede in der biologischen Effektivität zwischen einer kontinuierlichen LDR-Radiotherapie und einer gepulsten Brachytherapie auch hinsichtlich des Auftretens von Spätveränderungen zu beobachten.

Allerdings läßt sich das Risiko, stärkere Spätfolgen durch höhere Pulsdosen an spät reagierendem menschlichen Gewebe zu verursachen, weder durch ein radiobiologisches Rechenmodell noch an einem In-vitro-Zellmodell oder In-vivo-Modell wirklich erkennen.

Erste klinische Erfahrungen wie die von Fritz et al. [7, 9] zeigen, daß eine PDR-Brachytherapie, hier an der Thoraxwand, mit Pulsdosen von 1 Gy/h, stündlicher Pulswiederholung und 40 bis 50 Gy Gesamtdosis in zwei Serien (vier bis fünf Wochen Pause) tolerable Akut- und frühe Spätreaktionen hervorruft. Allerdings wiesen vier von elf Heidelberger Patientinnen mit einem Überleben von mehr als einem Jahr doch deutliche Spätveränderungen wie Teleangiektasien auf, und diese Nebenwirkungen waren wesentlich früher zu beobachten als nach vergleichbar fraktionierter perkutaner Radiotherapie auch bei erfolgter Vorbestrahlung.

Leborgne et al. [10] publizierten einen Vergleich von klinischen Ergebnissen, Akut- und Spätnebenwirkungen an insgesamt 190 Patientinnen mit Zervixkarzinomen im Stadium FIGO IB bis IIB, die mit einer Kombination von perkutaner Strahlentherapie und einer Brachytherapie mit unterschiedlichen Dosisleistungen und Fraktionierungen behandelt wurden. Dabei berichten die Autoren, daß nach einer Brachytherapie mit einer Dosisleistung von 168 cGy/h (zwei Fraktionen: 62,5 Gy im Punkt A + 17,9 Gy perkutane Radiotherapie) im Vergleich zu einer kontinuierlichen Brachytherapie im LDR-Verfahren (44 cGy/h), nahezu gleicher Dosierung und Fraktionierung (zwei Fraktionen: 65,1 Gy Punkt A + 15,2 Gy perkutane Radio-

therapie), eine deutlich höhere Spättoxizität am Rektum zu beobachten war (Toxizitätsgrad 2 und 3: 83% vs. 1%).

Langjährige und umfangreichere Erfahrungen mit der PDR-BT, wie sie zur zuverlässigen Erfassung von Spätreaktionen gefordert werden müssen, existieren noch nicht. So scheint zum jetzigen Zeitpunkt die Pulsdosis von 1 Gy beziehungsweise eine Gesamtbehandlungszeit entsprechend einer kontinuierlichen LDR-Brachytherapie mit einer Dosisleistung von etwa 50 cGy/h der sicherste Weg zu sein, wenn das PDR-Verfahren in der Klinik angewendet werden soll. Zudem sollten weitere Experimente an In-vivo-Modellen insbesondere mögliche Spätfolgen besser aufklären.

Literatur

1. Brenner DJ, Hall EJ. Conditions for the equivalence of continuous to pulsed low dose rate brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991;20:181–90.
2. Brenner DJ, Hall EJ, Randers-Pehrson G et al. Quantitative comparison of continuous and pulsed low dose rate regimens in a model late-effect system. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996;34:905–10.
3. Brock A, Prager W, Pohlmann S, Friedrich K. Erste Ergebnisse zur strahlenbiologischen Vergleichbarkeit einer kontinuierlichen LDR-Bestrahlung und einer PDR-Bestrahlung mit Hilfe des Tiermodells Meerschweinchenhaut. *Strahlenther Onkol* 1995;171:641–5.
4. Deschavanne PJ, Fertil B. A review of human cell radiosensitivity in vitro. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996;34:251–66.
5. Erickson B, Shadley JD. In vitro test of the cytotoxic equivalence between pulsed dose rate and continuous low dose rate. *Radiat Oncol Invest* 1996;3:217–24.
6. Fowler J, Mount M. Pulsed brachytherapy: the conditions for no significant loss of therapeutic ratio compared with traditional low dose rate brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992;23:661–9.
7. Fritz P, Hensley FW, Berns C, Schraube P, Wannenmacher M. Tolerance of human skin applying pulsed brachytherapy with large afterloading moulds. *Int J Radiat Biol Phys* 1995;32:Suppl 1:238.abstract.
8. Fritz P, Weber KJ, Frank C, Flentje M. Differential effects of dose rate and superfractionation on survival and cell cycle of V79 cells from spheroid and monolayer culture. *Radiother Oncol* 1996;39:73–9.
9. Fritz P, Hensley FW, Berns C, Schraube P, Wannenmacher M. First experiences with superfractionated skin irradiations using large afterloading moulds. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996;36:147–57.
10. Leborgne F, Fowler JF, Leborgne JH, Zubizarreta E. Fractionation in medium dose rate brachytherapy of cancer of the cervix. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996;35:907–14.
11. Lotter M. Morphologische Veränderungen und Klonogenität von Säugerzellen nach Bestrahlung im therapeutisch relevanten Dosisbereich. Inaug.-Diss., Med. Fakultät, Erlangen-Nürnberg 1995.
12. Mason KA, Thames HD, Ochrán TG, Ruifrok ACC, Janjan N. Comparison of continuous and pulsed low dose rate brachytherapy: biological equivalence in vivo. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994;28:667–71.
13. Pomp J, Wike JL, Ouwerkerk IJM et al. Cell density dependent plating efficiency affects outcome and interpretation of colony forming assays. *Radiother Oncol* 1996;40:121–5.
14. Pop LAM, Van den Broek JFCM, Visser AG, Van der Kogel AJ. Constraints in the use of repair half times and mathematical modelling for the clinical application of HDR and PDR treatment schedules as an alternative for LDR brachytherapy. *Radiother Oncol* 1996;153–62.
15. Puck TT, Marcus PI. Action of X-rays on mammalian cells. *J Exp Med* 1956;103:653–66.
16. Schulz-Wendtland P, Krämer S, Keilholz L, Pflüger S, Lang N. Dosisleistungseffekte an Ca-Ski und HPK-Zellen in Abhängigkeit von Dosis und Fraktionierung. *Strahlenther Onkol* 1996;172:439–45.
17. Withers HR, Elkind MM. Microcolony survival assay for cells of mouse intestinal mucosa exposed to radiation. *Int J Radiat Biol* 1970;17:261–7.

Für die Verfasser: Dr. Ludwig Keilholz, Strahlentherapeutische Klinik, Universitätsstraße 27, D-91054 Erlangen.