

Aus der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie der Universität München,

Direktor: Professor Dr. med. E. Dühmke

**Vorläufige Ergebnisse einer Phase I Studie zur Applikation von
Photofrin II[®] als tumorselektives radiosensitivierendes Agens bei
soliden Tumoren**

Vorgelegt von Moshe Schaffer

aus Kfar Saba

2006

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. E. Dühmke

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. D. Zaak

Prof. Dr. G. Sauter

Priv. Doz. Dr. M. Essler

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 23.03.2006

Inhaltverzeichnis:

| | |
|--|-----------|
| 1. EINFÜHRUNG | 5 |
| 1.1 Vorwort | 5 |
| 1.2 Grundlagen der Strahlenbiologie | 6 |
| 1.3 Tumorselektivität der ionisierenden Strahlung | 8 |
| 1.4 Radiosensitizer in der Strahlentherapie | 9 |
| 1.5 Photodynamische Therapie (PDT) | 10 |
| 1.6 Porphyrine als Sensibilisatoren für ionisierende Strahlung | 13 |
| 1.6.1 Haematoporphyrin Derivat (HpD) | 13 |
| 1.6.2 Gadolinium Texaphyrin (Gd-Tex, Xcytrin™) | 14 |
| 1.7. Photofrin II® als selektiver Radiosensitizer | 15 |
| 1.8. Zielsetzung der vorliegenden Arbeit | 18 |
| 2. MATERIAL UND METHODIK | 19 |
| 2.1. Studien Protokoll | 19 |
| 2.2. Ein- und Ausschlusskriterien | 21 |
| 2.3. Feststellung der Wirksamkeit | 23 |
| 2.4. Feststellung von Nebenwirkungen | 24 |
| 2.5. Statistische Überlegungen | 24 |
| 2.6. Patientenkollektiv | 26 |
| 2.7. Behandlungsprotokoll | 27 |
| 3. ERGEBNISSE | 29 |
| 3.1. Nebenwirkungsprofil | 29 |
| 3.2. Ergebnisse der Studienpatienten | 29 |
| 3.3. Pharmakokinetisches Verhalten von Photofrin II® | 34 |
| 4. DISKUSSION | 35 |

| | |
|--------------------------------|-----------|
| 5. ZUSAMMENFASSUNG | 41 |
| 6. LITERATURVERZEICHNIS | 42 |
| 9. LEBENSLAUF | 58 |
| 10. DANKSAGUNG | 63 |

1. Einführung

1.1 Vorwort

In Deutschland und den USA erhalten ca. 60% der Tumorpatienten eine kurative oder palliative Strahlentherapie - entweder als Primärtherapie oder zusätzlich zur Operation oder Chemotherapie. Bei Erstvorstellung der Patienten mit malignen Tumoren weisen 70% eine lokoregional begrenzte und 30% eine fernmetastasierte Erkrankung auf. Von den lokoregionalen Erkrankungen können 56% geheilt werden, 44% rezidivieren jedoch. Zum Zeitpunkt des Todes sind bei 67% der Patienten persistente lokoregionale Tumoren nachweisbar. [1]. Dies zeigt, dass das wesentliche Ziel einer Tumorthherapie die lokoregionäre Kontrolle sein sollte. Gerade hier gilt es, den Einsatz der Strahlentherapie bei diesen Patienten zu optimieren.

Die Behandlung von Tumorpatienten erfordert immer mehr eine interdisziplinäre, komplexe Entscheidungsfindung unter Berücksichtigung grundlegender Konzepte und moderner Technologien. Diese reicht von der Bestimmung und Evaluierung des Tumorstadiums bis zum multimodalen Therapiekonzept und darf nie die Lebensqualität des Patienten aus den Augen verlieren.

Mit Hilfe von computergestützten Bestrahlungsprotokollen unter Verwendung verschiedener Strahlenarten kann die meist relativ geringe Selektivität ionisierender Strahlen für viele Tumoren verbessert werden. Die biologischen Auswirkungen der Strahlung sind jedoch von biochemischen und physiologischen Faktoren, wie der Sauerstoffversorgung oder der Zellzyklusphase abhängig [2] und betreffen sowohl neoplastisches, als auch normales Gewebe. Hier setzen strahlensensibilisierende, radioprotektive und chemotherapeutische Agenzien an [1,3]. Sie sollen die Strahlenwirkung dahingehend modifizieren, dass sie das normale Gewebe möglichst wenig und das Tumorgewebe maximal treffen. Leider sind die meisten der verwendeten Radiosensitizer weder

selektiv, noch tumorspezifisch, und überdies durch ihre intrinsische Toxizität äußerst nebenwirkungsreich [1,3].

In letzter Zeit wurden mehrere Studien veröffentlicht, die anhand von Untersuchungen mit Zellkulturen und Tumormodellen an Mäusen die *in vitro* und *in vivo* Wirksamkeit von Photofrin II[®] sowohl als spezifisches als auch als selektives radiosensitivierendes Agens gezeigt haben [4-11].

Die vorliegende Arbeit beschreibt eine neue selektive und spezifische Methode zur Erhöhung der Empfindlichkeit solider Tumore gegenüber Strahlung, insbesondere bei strahlenresistenten, hypoxischen Tumorzellen. Ziel war es, den möglichen klinischen Einsatz von Photofrin II[®] in einer Phase I Studie zu untersuchen, um zum einen die Anwendbarkeit zu bewerten und zum anderen die Toxizität einer Kombination von Photofrin II[®] und ionisierender Strahlung abzuschätzen. Hierfür wurde Photofrin II[®], das auch als photosensibilisierende Substanz in der Photodynamischen Therapie (PDT) bekannt ist, vor Beginn der konventionellen Strahlentherapie als radiosensibilisierendes Agens verabreicht.

1.2 Grundlagen der Strahlenbiologie

Die biologische Wirkung ionisierender Strahlung resultiert aus der Energieabsorption im Gewebe, die zur Anregung oder Ionisation von Molekülen führt. Bei der Anregung wird ein Elektron auf eine höhere energetische Schale gehoben, bei der Ionisation werden ein oder mehrere Elektronen ausgestoßen, die wiederum andere Atome anregen oder ionisieren können. Die zusätzlich freiwerdende Schwingungs- und Rotationsenergie wird vor allem in Wärme umwandelt.

Man unterscheidet drei Phasen der Strahlenwirkung, die nacheinander ablaufen:

1. *Physikalische Phase:* Die Energieabsorption erfolgt in 10^{-16} - 10^{-13} s.

Die Umwandlung der Anregungsenergie in andere Energieformen vollzieht sich in ca. 10^{-12} sec..

2. *Chemische Phase:* Biochemische Veränderungen, v.a. Radikalbildungen und deren Folgereaktionen, laufen ab.
3. *Biologische Phase:* Dauer von Sekunden bis Jahren.

Weiter unterscheidet man die direkte von der indirekten Strahlenwirkung. Bei der direkten Strahlenwirkung werden durch Ionisation Biomoleküle (z.B. DNS) gespalten und verlieren so ihre charakteristischen Eigenschaften, bei der indirekten Strahlenwirkung entstehen Veränderungen durch Folgeprodukte der angeregten oder ionisierten Moleküle (besonders des Wassers) [2].

Eine zentrale Rolle bei der biologischen Strahlenwirkung spielt die Radiolyse des Wassers. Humanes Gewebe besteht zu 70-80% aus Wasser, weswegen besonders bei niedrig LET-Strahlung Wassermoleküle häufiger als andere organische Moleküle von der Strahlung getroffen werden. Durch Anregung entstehen $\text{H}_2\text{O}^\bullet$, durch Ionisation H_2O^+ und e^- und in Folgereaktionen H^\bullet , OH^\bullet und e_{aqu} (hydratisierte Elektronen). Diese-Folgeradikale sind sehr aktiv und beweglich und führen durch Reaktionen untereinander und mit anderen Molekülen zu zwei Drittel des durch Röntgen- und Gammastrahlen induzierten Schadens. Sauerstoff fixiert hierbei den durch die Radikale verursachten Schaden und spielt dadurch eine zentrale Rolle. All diese Reaktionen sind binnen Millisekunden abgeschlossen.

Die fraktionierte Bestrahlung basiert vor allem auf den „4 R´s“ der Strahlenbiologie [2]:

1. *Repair:* Subletale Strahlenschäden können zwischen den Fraktionen repariert werden. Dies erfordert zum einen eine Erhöhung der Gesamtdosis, führt aber durch unterschiedliche Reparaturkapazitäten auch zu einer unterschiedlichen Strahlenantwort in verschiedenen Geweben.

2. *Reoxygenierung*: Durch die Rezirkulation von Blut infolge der Wiederöffnung temporär verschlossener Gefäße und gleichzeitig vermindertem Sauerstoffbedarf durch das geschrumpfte Tumorumfängen erhöht sich im Fraktionsintervall die Zahl gut oxygenierter, strahlensensibler Zellen.
3. *Redistribution*: Da die Zellen in verschiedenen Zellzyklusphasen unterschiedlich strahlenempfindlich sind, nimmt zunächst die Zahl radiosensitiver Zellen nach Bestrahlung ab. Im Fraktionsintervall beendet v.a. schnell proliferierendes Tumorgewebe diese partielle Synchronisation der Zellen und wird dadurch wieder strahlensensibel.
4. *Repopulierung*: In den Fraktionsintervallen kommt es zur Zellteilung von nicht inaktivierten Tumorzellen, aber auch von gesundem Gewebe. Auch G₀-Zellen können sich wieder in die Wachstumsfraktion einschleusen.

Für gewöhnlich sind diese Eigenschaften bei Tumor- und gesundem Gewebe unterschiedlich stark ausgeprägt. Die Vorteile der Fraktionierung beruhen v.a. auf der Erholung des gesunden Gewebes durch Repair und Repopulierung in den Bestrahlungspausen und damit auf der Reduktion von Spätnebenwirkungen in spät reagierendem, gesundem Gewebe. Im Gegensatz dazu wird Tumorgewebe durch Reoxygenierung und Redistribution in den Bestrahlungspausen wieder sensibler für die nächste Strahlenfraktion. Ein maximaler Strahleneffekt bei minimaler Toxizität ist somit gewährleistet..

1.3 Tumorselektivität der ionisierenden Strahlung

Die meist relativ niedrige Tumorselektivität ionisierender Strahlung kann durch eine dreidimensionale Bestrahlungsplanung, Hochpräzisionsbestrahlung oder die Kombination verschiedener Strahlenquellen wie Elektronen, Photonen und Protonen verbessert werden. Der Einsatz strahlensensibilisierender Agenzien kann das Ausmaß der Tumorschädigung nochmals steigern. Diese Agenzien sind Substanzen, die kombiniert mit einer Bestrahlung eine bessere Tumorinaktivierung erreichen, als von einer additiven Wirkung beider Therapieverfahren zu

erwarten wäre. Trotz der Anwendung von modernsten Technologien und von Radiosensitizern ist, wie zuvor erwähnt, ein lokales Therapieversagen häufig. Gerade deshalb muss bei der Bewertung von strahlensensibilisierenden Wirkstoffen die Wahrscheinlichkeit der lokalen Tumorkontrolle (therapeutische Ratio) und der Möglichkeit von Komplikationen in Betracht gezogen werden.

1.4 Radiosensitizer in der Strahlentherapie

Der therapeutische Nutzen einer Strahlentherapie hängt von der biologischen Strahlenwirkung auf Tumor- und gesundes Gewebe ab und wird u.a. durch die Sauerstoffversorgung und die Zellzyklusphasenverteilung bestimmt. Er kann aber auch durch Chemikalien wie Radiosensitizer, Radioprotektoren und Chemotherapeutika modifiziert werden [1,3]. Die meisten bekannten strahlensensibilisierenden Wirkstoffe sind jedoch weder selektiv noch tumorspezifisch und führen überdies meist zu ernsthaften systemischen Nebenwirkungen.

Die zentrale Rolle des Sauerstoffs für die Strahlensensibilität führte zu der Annahme seiner potentiellen Relevanz für die Tumorthapie. Das Tumorwachstum ist auf eine ausreichende Blutversorgung angewiesen, die durch eine Angiogenese erreicht wird. Bei schnellem Wachstum kommt es in den inneren Regionen des Tumors zu einer Sauerstoffmangelversorgung, da die Sauerstoffdiffusionskapazität nicht mehr ausreicht und die Tumorzellen Sauerstoff für ihren Metabolismus verbrauchen. Die Zellen werden chronisch hypoxisch. Bei einem nur temporären Verschluss von Gefäßen tritt eine vorübergehende Hypoxie auf, was zu einer zunehmenden Strahlenresistenz führt [12-14]. Der Versuch die Tumoroxygenierung zu verbessern, liegt daher nahe. Dies wurde mit der Anwendung von hyperbarem Sauerstoff während der Bestrahlung, mit Nitroimidazol-Verbindungen und mit einer Manipulation der Mikroumgebung des Tumors durch eine Erhöhung der Sauerstoffkapazität des Blutes mittels RSR-13 oder SR 4233-Tirapazamin [1,15] versucht. All diese Verfahren sind jedoch auch nach zwei Jahrzehnten klinischer Forschung noch nicht reif für die klinische Standardanwendung [3].

Für nicht-hypoxische Zellen versuchte man andere Radiosensitizer wie halogenierte Pyrimidin-Analoga (BudR und IUDR), die mit Thymidin um den Einbau in die DNS konkurrieren und die so modifizierte Zelle strahlensensibler machen. Maximal ist dieser Effekt, wenn 30% des Thymidins durch BudR ersetzt sind [1,3]. Diese Stoffe werden schnell abgebaut und müssen deshalb als Dauerinfusion verabreicht werden. Die beste Eignung zeigen sie für Tumoren mit großer Wachstumsfraktion und kurzer Zellzykluszeit und damit großem Unterschied zu normalem Gewebe. Eine eindeutige Erhöhung der Tumorkontrolle konnte jedoch noch nicht gezeigt werden [1,3]. Als weitere Radiosensitizer sind Chemotherapeutika wie Hydroxyurea, 5-Fluorouracil, Cisplatin und Mitomycin bekannt [3]. Sie vermindern die enzymatische Reparatur strahlenbedingter DNS-Schäden.

Weiter wurden synchronisierende Wirkstoffe als strahlensensibilisierende Agenzien eingesetzt, die besonders in bestimmten Zellzyklusphasen wirksam sind [3]. Durch eine geeignete Kombination dieser Substanzen mit einer Bestrahlung sollte eine radiosensibilisierende Wirkung induziert werden. Zwar war dies in Zellkulturen und bestimmten experimentellen Tumoren der Fall, nicht jedoch beim Menschen mit seiner eigenen Zellheterogenität [3].

Alle erwähnten Methoden der Radiosensibilisierung sind weder tumorselektiv noch tumorspezifisch und werden durch ernsthafte Nebenwirkungen wie Nierenversagen, gastrointestinale Nebenwirkungen, Neurotoxizität und Immunsuppression in der Anwendung limitiert [1,3]. Würden sowohl tumorspezifische als auch selektive strahlensensibilisierende Wirkstoffe gefunden, die zugleich keine oder nur eine minimale Toxizität aufweisen, wäre die Wahrscheinlichkeit einer lokalen Tumorkontrolle außerordentlich erhöht.

1.5 Photodynamische Therapie (PDT)

Die Photodynamische Therapie entwickelte sich in den 1980er Jahren zu einer vielversprechenden Behandlungsoption für kleine, lokalisierte, inoperable Tumoren, wie das multifokale

Harnblasenkarzinom [16]. Hierbei wird ein photosensibilisierendes Mittel, das sich v.a. in Tumoren anreichert, lokal oder systemisch verabreicht. Anschließend erfolgt die Illumination der Neoplasie mit einer Lichtquelle der Wellenlänge, die von dem Photosensibilisator spezifisch absorbiert wird. [17,18] Die Photosensibilisatormoleküle werden durch die Lichtabsorption aus dem energetischen Grundzustand S_0 in den elektronisch angeregten Singlet-Zustand (S_1 oder S_2 , abhängig von der Wellenlänge) angeregt [19]. Die Rückkehr aus dem S_1 - in den S_0 -Zustand erfolgt strahlungslos oder unter Emission eines Photons (Fluoreszenz) [16,19,20].

In Abwesenheit von Sauerstoff kann keine Zellenaktivierung erfolgen [17,18, 20]. Bei ionisierender Strahlung ist Sauerstoff zwar auch zur Strahlensensibilisierung nötig, aber keine absolute Voraussetzung zur Induktion des Zelltodes. Während ionisierende Strahlung die DNS im Zellkern angreift, zielt die PDT auf die Zellmembranzerstörung [16]. Als häufigste photosensibilisierende Agenzien werden in diesem Zusammenhang Porphyrine und ihre Analoga (tetrapyrrolische Makrozyklen) verwendet. Ihre Absorptionsbanden liegen im roten sichtbaren Spektralbereich (600-800 nm), der ein besonders hohes Penetrationsvermögen für menschliches Gewebe zeigt [20], aber nicht von endogenen Zellbestandteilen absorbiert wird und somit das Risiko einer allgemeinen photosensibilisierenden Wirkung minimiert. Allerdings gibt es einige Limitierungen der Effektivität der PDT, die eine Wiederholung der PDT-Sitzungen notwendig machen und die häufigen Tumorrezidive erklären [16,17]:

1. Der niedrige molare Extinktionskoeffizient von Porphyrinen im klinisch anwendbaren roten Spektralbereich vermindert die Effizienz der Aktivierung durch Licht.
2. Das Absorptionsmaximum der Porphyrine (630nm-Wellenlänge) hat ein reduziertes Gewebepenetrisationsvermögen mit einer Eindringtiefe von 0,6-0,8cm [21].

Photofrin II[®], eine komplexe Mischung von Porphyrinen, die durch chemische Modifikation von Hämatoporphyrin (Hp) hergestellt werden [22], ist die am häufigsten verwendete Substanz und seit kurzem auch für die PDT klinisch zugelassen [16, 17].

Neben Photofrin II[®] wurde auch 5-Aminolävulinsäure (5-ALA, Levulan[®]), eine Vorstufe von Protoporphyrin IX (PpIX) im biosynthetischen Stoffwechsel des Häm, weltweit an mehreren Tausend Patienten erfolgreich getestet [16-18]. In klinischen Studien befinden sich u.a. m-THCP (Foscan[®]), Benzoporphyrin-Derivat (BPD-MA, Visudyne[™]), Monoaspartylchlorin e6 (Npe6), Tin - Etiopurpurin (SnET2, Purlytin[™]), induziertes Protoporphyrin IX, mit Bor versetztes Protoporphyrin (BOPP) und Motexafin Lutetium (Lu-Tex, Antrin[™], Lutrin[™]/Optrin[™]) [89].

Abhängig von ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften müssen Photosensibilisatoren intravenös oder lokal appliziert werden. Die bedeutendste unerwünschte Wirkung der PDT ist die Photosensibilisierung der Haut, die v.a. bei Photofrin II[®] zeitlich protrahiert verläuft.

Zur PDT-Optimierung wird z.Z. in verschiedenen Zentren eine Kombination mit einer Operation, Chemo- oder Radiotherapie untersucht [17, 23-26].

Porphyrine und ihre Derivate reichern sich bevorzugt im Tumorgewebe an. Der Konzentrationsunterschied im Vergleich zu Haut- oder Muskelgewebe ist hierbei für Photofrin II[®] maximal zwei- bis fünffach [27-29]. In Leber, Milz und Niere ist die Konzentration des pharmazeutischen Stoffes hingegen im normalen, intakten Gewebe höher als im Tumorgewebe [30].

Erklärt werden kann die selektive Anreicherung von Photosensibilisatoren in Tumorzellen durch unspezifische, tumorassoziierte, pathophysiologische Veränderungen, wie durch ein saures Milieu (pH-Wert) [31-32], eine hohe Makrophagendichte [33-34], eine hohe Lipoproteindichte [35-38] sowie durch einen hohen Anteil an Kollagen im Stroma und in den retikuloendothelialen Elementen [35-36].

1.6 Porphyrine als Sensibilisatoren für ionisierende Strahlung

1.6.1 Haematoporphyrin Derivat (HpD)

Bereits 1955 beschrieb Schwartz als erster die radiosensibilisierenden Effekte von Porphyrinen und die Kombination von HpD und Strahlentherapie zur Tumorthherapie [39]. Eine verbesserte lokale Tumorkontrolle konnte v.a. beim Plattenepithelkarzinom, Rhabdomyosarkom, Fibrosarkom und bei Karzinoiden gezeigt werden. Als Nebenwirkungen wurden Übelkeit, Erbrechen und eine etwa zwei Monate dauernde Lichtempfindlichkeit der Haut beschrieben. HpD, eine stark heterogene Mischung von Porphyrin-Monomeren und -Oligomeren, wird durch die Behandlung von Hp mit Schwefelsäure und Essigsäure erzeugt. Die partielle Reinigung von HpD mit Anreicherung der oligomeren Komponenten ergibt das kommerziell erhältliche Photofrin II[®] [22].

In vivo Experimente an Mäusen zeigten, dass ein Kupferkomplex des Hämatoporphyrins eine gute strahlensensibilisierende Wirkung auf implantierte Tumoren hat. Dieser Effekt war aber nur bei sehr niedrigen Konzentrationen der Substanz nachweisbar und kehrte sich bei hohen Konzentrationen in eine radioprotektive Wirkung um [40-41]. Auch andere Autoren bestätigten die Wirkung von HpD als Radiosensitizer [42-45]. Im Ratten-Gliom-Modell ließ sich das Tumorstadium um 40% gegenüber der Kontrolle reduzieren [45]. Andere in vitro Studien zeigten keine strahlensensibilisierende Wirkung von HpD und ergaben sogar eine protektive Wirkung auf anoxische Zellen [46-47]. Diese kontroversen Ergebnisse lassen sich durch den Einsatz verschiedener HpD-Konzentrationen, unterschiedlicher Inkubationszeiten für HpD und verschiedener Tumorzelllinien erklären. Bemerkenswert ist zudem, dass der Radiosensitizer-Effekt von HpD in in vitro und in vivo Experimenten nachweisbar ist, wohingegen es sich bei allen Experimenten, die keinen Effekt zeigten, um in vitro Versuche handelte. Die unterschiedliche Mikroumgebung könnte bei dem Phänomen der Strahlensensibilisierung eine Rolle spielen.

1.6.2 Gadolinium Texaphyrin (Gd-**Tex**, **Xcytrin**[™])

Texaphyrine (große, planare Porphyrin-ähnliche Makrozyklen, die in der Lage sind, zahlreiche Prozesse zu koordinieren) können an Gadolinium(III) und andere Elemente der trivalenten Lanthanreihe gekoppelt werden [48-49]. Die so entstehenden synthetischen Porphyrine können für die PDT (Lutrin[™]), für die photoangioplastische Reduktion von Atheroskleroseplaques (Antrin[™]) und als potentieller Verstärker für die Strahlentherapie bei Patienten mit Hirnmetastasen, die eine Ganzhirnbestrahlung erhalten (Gadolinium-Texaphyrin, Gd-**Tex**, **Xcytrin**[™]), verwendet werden [48]. Der Porphyrin-ähnliche Komplex reagiert mit hydratisierten Elektronen, reduzierenden Ketyl-Radikalen und Superoxid-Ionen und bildet ein langlebiges, hoch reaktives p-Radikal-Ion [49]. Dass die Metallotexaphyrine hydratisierte Elektronen einfangen und somit die Konzentration an Hydroxyl-Radikalen nach Anwendung ionisierender Strahlung erhöhen können, wurde in einer Reihe von Studien nachgewiesen [49-56]. Von Vorteil ist diese Verbindung des Porphyrins mit Gadolinium v.a. deshalb, weil es auch in der Radiodiagnostik als Kontrastmittel eingesetzt werden kann und somit bei Hirntumoren und –metastasen besonders zweckdienlich ist [49,54]. Allerdings wurden bei Gabe hoher Einzeldosen dieser Substanz Fälle irreversibler Nierentoxizität beobachtet [55]. In vitro zeigte sich eine Zeitspanne von 2-6h zwischen Verabreichung von Gd-**Tex** und der Bestrahlung als besonders effektiv im Bezug auf die radiosensibilisierende Wirkung gemessen im Tumorwachstums- und –wachstumsverzögerungskurven und Tumolvolumina [57]. In verschiedenen klinischen Studien, einschließlich einer Phase III-Studie, wurden die radiologischen, neurokognitiven und neurologischen Progressionen als primäre Endpunkte und die biologische Sicherheit von Gd-**Tex** untersucht [50-52, 56]. Hierbei ergab sich eine gute Verträglichkeit von Gd-**Tex** bei guter lokaler Kontrolle und sogar einer Tumorregression sowie einer verlängerten Zeitspanne bis zur neurologischen Progression und zum Tod durch den zerebralen Tumor [50]. Als Nebenwirkungen traten bei wiederholter Gabe von 5mg/kg Gd-**Tex** täglich bei 88% der Patienten eine reversible olivgrüne Hautverfärbung, bei 44% Übelkeit und Erbrechen und ansonsten erhöhte

Werte für ALT- und γ -GT auf [50]. Eine Photosensibilisierung blieb aus, da Gd-Tex photochemisch inaktiv ist. Aufgrund der Ausscheidung der hydrophoben Porphyrine, wie Gd-Tex, über den hepatobiliären Stoffwechselweg sind Langzeitnebenwirkungen möglich [21].

Aber auch diese ermutigenden Ergebnisse sind nicht unumstritten. So fehlte bei Bernhard et al. die strahlensensibilisierende Wirkung von Gd-Tex auf die Tumorzelllinien HT-29, U-87 MG, U251-NCI, SW480, A549 und MCF7 [58].

1.7. Photofrin II[®] als selektiver Radiosensitizer

Cohen und Schwartz zeigten als erste die strahlensensibilisierende Wirkung von HpD auf experimentelle Tumoren und die bevorzugte Anreicherung dieser Substanz im neoplastischen Gewebe [39-41]. Trotz der vielversprechenden Ergebnisse gibt es nur knappe Literaturdaten zu vereinzelt weiteren Anwendungen [39-41], wahrscheinlich unter anderem dadurch bedingt, dass eine heterogene Porphyrin-Mischung auch zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen führen kann.

Für die purifizierte Form des HpD, Photofrin II[®] [22] waren daher folgende Fragestellungen von Interesse:

1. Kann Photofrin II[®] als effiziente strahlensensibilisierende Substanz in einem experimentellen, soliden Tumormodell sowohl *in vitro* als auch *in vivo* funktionieren?
2. Welche Mechanismen spielen hierbei eine Rolle?
3. Haben andere bekannte Photosensitizer die in der photodynamischen Therapie (PDT) angewendet werden, einen strahlensensibilisierenden Effekt?

In der Vergangenheit wurden diese Fragestellungen *in vitro* und *in vivo* erforscht und die Wirksamkeit von Photofrin II[®] sowohl als spezifisches, als auch als selektives radiosensitivierendes Agens gezeigt [4-8, 11].

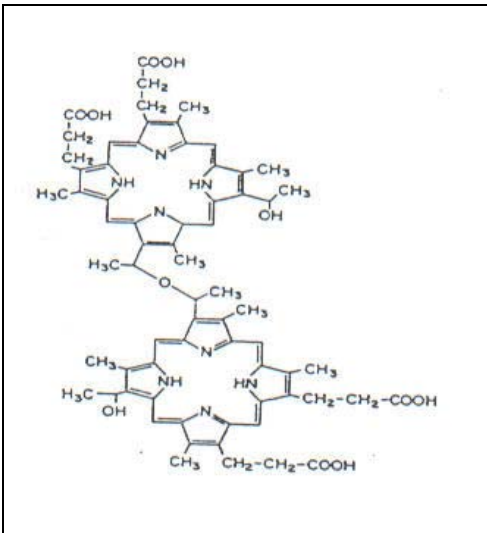


Abb. 1: Strukturformel von Dihämatoporphyrinester (Photofrin II[®]) [aus Stepp 1993] [59]

Kulka et al. haben *in vitro* die Wirksamkeit von Photofrin II[®] als Radiosensitizer an zwei Zelllinien, RT4 (Harnblasenkarzinom) und U373MG (Glioblastom), belegt [11]. Beide Zelllinien gelten als strahlenresistent [60-63]. Andererseits wurde diese Wirkung bei den HT29 (Adenokarzinom des Kolon) Zellen nicht beobachtet [11]. Für höhere Strahlendosen zeigte sich bei Photofrin II[®] eine größere Effizienz als Radiosensitizer .

Unsere Arbeitsgruppe konnte weiterhin demonstrieren, dass OE21-Zellen (Ösophagus-Plattenepithelkarzinom-Zellen) ihre Strahlensensibilität in Gegenwart von Photofrin II[®] erhöhen [10]. Andererseits wurde diese Wirkung bei den OE33-Zellen (Ösophagus-Adenokarzinom-Zellen) nicht beobachtet [10].

Die publizierten Daten aus *in vivo* Experimenten [4-8], haben eine Verzögerung des Tumorwachstums beim Bestrahlen von Mäusen, die mit humanen Blasenkarzinomzellen (RT4) transfiziert wurden, gezeigt. Ähnliche Ergebnisse sind auch bei *in vivo* Experimenten mit Lewis-Sarkomen beobachtet worden [5].

Basierend auf den oben beschriebenen Ergebnissen wurden zusätzliche Versuchsserien durchgeführt, um die Effizienz von Photofrin II[®] als strahlensensibilisierender Substanz im

Vergleich zu anderen Porphyrinen zu untersuchen. Die folgenden Porphyrine wurden bewertet: Photofrin II[®], Hämatoporphyrin (Hp), Zn(II)-Phthalocyanin-tetrasulfonat (ZnTPS) und Chlorin e₆, Zn(II)-Phthalocyanin (ZnPc), 5 –Aminolevulinsäure (5-ALA), sowie Protoporphyrin IX [6].

Die Ergebnisse belegen, dass andere tetrapyrrolische Analoga von Porphyrinen, wie Chlorine und Phthalocyanine, die keine oligomeren Derivate enthalten, als strahlensensibilisierende Agenzien im Wesentlichen unwirksam sind, obwohl sie alle in detektierbaren Mengen von experimentellen Tumoren angereichert wurden.

Der Mechanismus oder die Mechanismen, auf denen die strahlensensibilisierende Wirkung von Photofrin II[®] beruht, sind letztlich noch nicht klar verstanden. Es ist aber wahrscheinlich, dass die oligomeren Porphyrin-Komponenten, die in Photofrin II[®] angereichert sind, an dem Sensibilisierungsprozess beteiligt sind [4-7, 64]. Man nimmt an, dass Photofrin II[®] mit aktivierten und zytotoxischen Verbindungen, wie Hydroxyl-Radikalen reagiert, die bekanntermaßen als Primärprodukte aus der Reaktion von Röntgenstrahlen und Wasser entstehen [2]. In diesem Zusammenhang würde Photofrin II[®] als Verstärkungsfaktor der Bestrahlung fungieren, indem einsetzende Reparaturprozesse minimiert werden und demzufolge ein strahleninduzierter Zellschaden nicht mehr effektiv begrenzt werden kann. Die Photoaktivierung der Porphyrine findet zwischen 350-800 nm statt. Die ionisierende Bestrahlung, die mit Hilfe einer therapeutischen Vorrichtung erzeugt wird, weist beispielsweise eine Energie von 12 MeV und eine Wellenlänge zwischen $6 \cdot 10^{-3}$ bis $8 \cdot 10^{-3}$ nm auf, wohingegen Röntgen-Vorrichtungen, wie jene, die in den weiter oben beschriebenen Experimenten verwendet wurden, eine Wellenlänge zwischen $8 \cdot 10^{-2}$ und 10 nm haben. Es ist deshalb unwahrscheinlich, dass die strahlensensibilisierenden Wirkungen auf einer direkten Interaktion zwischen Porphyrin II[®] und der laufenden Bestrahlung basieren. Zudem konnte gezeigt werden, dass die Bildung von hochreaktiven Radikalen, wie Hydroxylradikalen, eine bedeutende Rolle im Wirkungsmechanismus des Photofrin II[®] als radiosensibilisierende Substanz spielt [73].

1.8. Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Die vorgenannten Studien haben eine Wirksamkeit von Photofrin II[®] unter in vitro und tierexperimentellen in vivo Bedingungen belegt. Basierend auf diesen Studienergebnissen war das Ziel der vorliegenden Arbeit, den möglichen klinischen Einsatz von Photofrin II[®] in einer Phase I Studie zu untersuchen. Hierbei sollte zum einen die klinische Anwendbarkeit überprüft werden.

Zum anderen sollte die Toxizität einer Kombination von Photofrin II[®] und ionisierender Strahlung abgeschätzt werden.

2. Material und Methodik

2.1. Studien Protokoll

Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt. Alle Patienten wurden in einem persönlichen Gespräch ausführlich mündlich und schriftlich aufgeklärt. Von allen Patienten lag eine Einverständniserklärung vor.

Als primäres Zielkriterium galt es, die Anwendbarkeit und die Toxizität einer Kombination von Photofrin II[®] und ionisierender Strahlung zu evaluieren.

Als sekundäre Zielgrößen wurden definiert:

- Wirksamkeit der Kombinationstherapie durch Bestimmung der Tumorgröße mittels Computertomographie oder Magnetresonanztomographie, Szintigraphie
- Überlebenszeit
- Serumspiegelbestimmungen von Photofrin
- Dokumentation von unerwünschten Ereignissen
- Globalbeurteilung zur Wirksamkeit und Verträglichkeit

Es handelt sich um eine offene, nicht vergleichende klinische Prüfung der Phase I.

Der Verlauf der Studie lässt sich durch folgendes Ablaufschema verdeutlichen bzw. zusammenfassen:

| Maßnahmen | Start | Vor Boost | Ende Ra- diatio | 2M | 6M | 12M | 18M | 24M |
|---|--------------|----------------------|--------------------------------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| Anamnese/Demographie | X | | | | | | | |
| Einschluss-/ und Ausschlusskriterien | X | | | | | | | |
| Unerwünschte Ereignisse | X | X | X | X | X | | | |
| Wirksamkeit | (X) | (X) | (X) | X | X | X | | X |
| klinischer Status | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Globalbeurteilung | X | X | X | X | X | X | X | X |

In der Initialphase wurden engmaschigere Kontrollen durchgeführt, die folgende Maßnahmen umfassten:

| Maßnahmen | 2W | 4W | 6W | 8W | 12W |
|------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| klinischer Status | X | X | X | X | X |
| Verträglichkeit global | X | X | X | X | X |
| Photodokumentation | X | X | X | X | X |
| Laborparameter | X | X | X | X | X |

Die klinische Statuserhebung beinhaltete folgende Punkte:

- Allgemeinzustand
- Ernährungszustand

- Körpergewicht
- Herz
- Lunge
- Abdomen
- Leber
- Milz
- Nierenlager
- Klopfschmerzhaftigkeit der Wirbelsäule
- Lymphknoten
- Periphere Ödeme

Entsprechend der Studienanlage wurde keine Randomisierung durchgeführt.

Eine Verblindung ist bei dieser Art von Studie nicht angebracht.

2.2. Ein- und Ausschlusskriterien

Folgende Einschlusskriterien galten für die Studie:

- Alter: ≥ 18 Jahre
- Karnofsky Index $\geq 60\%$
- Vorliegen eines der folgenden soliden Tumoren: HNO Rezidivtumor, Bronchialkarzinom, Sarkom, Harnblasenkarzinom, Zervixkarzinom, malignes Gliom
- Kontraindikation für eine Strahlentherapie in primärer Verbindung mit Chemotherapie
- Schriftliche Einwilligungserklärung

Die Anwendung einer Chemotherapie konnte aus folgenden Gründen nicht durchgeführt werden:

- a) Alter und Allgemeinzustand, z.B. Herzinsuffizienz (im Falle von Adriamycin oder 5-FU), akute Niereninsuffizienz mit einem Kreatininspiegel von $> 1\text{mg}/100\text{ml}$ (im Falle einer Cisplatin/Carboplatin Applikation)
- b) Eine unzureichende Knochenmarksreserve (Leukozyten $< 3000/\text{mm}^3$, Thrombozyten $< 100.000/\text{mm}^3$ bei Notwendigkeit von Knochenmark toxischer Chemotherapie)
- c) Ablehnung einer Chemotherapie durch den Patienten
- d) Wirkungslosigkeit einer Chemotherapie nach 1-2 Zyklen bei Tumorprogress oder fehlendem Ansprechen (weniger als 50% Tumorresponse Rate)

Folgende **Ausschlusskriterien** galten für die Studie:

- Vorhandensein einer Erkrankung, die durch Licht verursacht oder verstärkt wird, wie z. B. Systemischer Lupus erythematoses, Psoriasis, Porphyrien, Xeroderma pigmentosum u.a.
- Niereninsuffizienz
- Leberzirrhose
- Schwangerschaft und Stillzeit
- Bekannte oder vermutete Non-Compliance
- Fehlen der Geschäftsfähigkeit
- Fehlen einer schriftlichen Einwilligungserklärung
- Alter < 18 Jahre

Patienten durften nur dann in die Studie aufgenommen werden, wenn alle Einschlusskriterien erfüllt waren und kein Ausschlusskriterium vorlag.

Folgende **Abbruchkriterien** galten für die Studie:

- Rücknahme der Einwilligungserklärung

- Nebenwirkungen, die ärztlich nicht vertretbar sind
- Nichtbefolgung der ärztlichen Anweisungen (Non-Compliance)
- Auftreten von allergischen Reaktionen
- Interkurrierende Erkrankungen, die eine Weiterführung nicht erlauben
- jedwedes Ereignis, das nach Ansicht des Prüfarztes eine Weiterführung unter Studienbedingungen als nicht gerechtfertigt erscheinen lässt

In den oben genannten Fällen wurden die Patienten den Studienbedingungen unmittelbar entzogen und unter individueller Nutzen-/Risiko-Abwägung der bestmöglichen Standardtherapie zugeführt.

2.3. Feststellung der Wirksamkeit

Die Beurteilung der therapeutischen Wirksamkeit gründete sich auf die folgende Standardklassifikation in der Onkologie:

- komplette Remission,
- partielle Remission,
- keine Änderung und
- Tumorprogression.

Die Entscheidung darüber wurde über bildgebende Verfahren herbeigeführt.

Daneben galten folgende Parameter als Kriterien der Wirksamkeit:

- Überlebenszeit
- Klinischer Status im Sinne der Wirksamkeit
- Globalbewertungen zur Wirksamkeit

Folgende Kontrollzeitpunkte waren zur Bestimmung der Wirksamkeit vorgesehen:

- Vor Bestrahlung
- Vor der Boost Bestrahlung
- Ende der Strahlentherapie
- 2, 6, 12, 18 und 24 Monate nach Beendigung der Strahlentherapie

Die Evaluierung der Tumorgröße erfolgte mittels Computertomographie bzw. Magnetresonanztomographie. Bei selektierten Patienten wurde zudem eine Positronenemissionstomographie (PET) durchgeführt.

2.4. Feststellung von Nebenwirkungen

Zur Evaluierung der Arzneimittelsicherheit wurden folgende Kenngrößen herangezogen:

- Klinischer Status bezüglich Verträglichkeit
- Laboruntersuchungen: Hämatologie, klinische Chemie
- Dokumentation von unerwünschten Ereignissen
- Globalbewertungen zur Verträglichkeit
- Serumspiegelbestimmungen von Photofrin

2.5. Statistische Überlegungen

Die Studienpatienten wurden in zwei Populationen eingeteilt:

- Intend-to-treat Population (carry-forward last value)
- Per-Protokoll Population

In die Intend-to-treat Population wurden alle Patienten aufgenommen, die zumindest einmal eine Prüfmedikation erhalten haben. Die Per-Protokoll Population beinhaltet alle Patienten, die die klinische Prüfung ordnungsgemäß durchlaufen haben.

Die Auswertung der Daten erfolgte entsprechend den Studienzielen deskriptiv.

Die deskriptive Darstellung der erhobenen Daten orientierte sich am Skalenniveau und lässt sich wie folgt beschreiben.

a) Nominalskalen/Ordinalskalen:

- Zellhäufigkeiten der Stufen
- Angabe zu fehlenden Daten
- valide Anzahl
- Gesamtzahl

b) Intervallskalen/Verhältnisskalen:

- arithmetisches Mittel
- Standardabweichung
- Median
- Spreizung
- Minimum
- Maximum
- valide Anzahl
- Konfidenzintervall (95%)

Neben der Zusammenfassung der Daten mittels statistischer Kenngrößen, erfolgten Einzelfalldarstellungen für das Gesamtkollektiv.

2.6. Patientenkollektiv

12 Patienten wurden in die Studie eingeschlossen (5 Frauen, 7 Männer; Durchschnittsalter 53,6 Jahre) (Tabelle1). Sieben Patienten hatten solide Tumoren in der Beckengegend, die nicht operabel waren (n=4 Blasenkrebs, n=2 Beckensarkom, n=1 Zervixkarzinom). Drei Patienten hatten ein Astrozytom (WHO Grad III), ein männlicher Patient hatte ein Rezidiv eines Oropharynxkarzinoms und ein männlicher Patient hatte ein Rezidiv einer Adenokarzinom der Keilbeinhöhle, wobei er nicht vorbestrahlt war. Alle Patienten mit Beckentumoren hatten Kontraindikationen für eine begleitende Chemotherapie. Einer der drei Patienten mit Astrozytom litt an einem Tumorrezidiv. Tabelle 1 fasst die Diagnosen zu den einzelnen Patienten zusammen.

| Anzahl Patienten | Geschlecht | Diagnose |
|------------------|------------|--|
| 3 | 1w, 2m | Blasenkarzinom |
| 1 | m | Lokalrezidiv Blasenkarzinom |
| 1 | w | Zervixkarzinom, FIGO IV |
| 2 | 2w | Sarkom im Becken |
| 3 | 1w, 2m | Astrozytom, WHO Grad III |
| 1 | m | Rezidiv eines Oropharynxkarzinoms |
| 1 | m | Rezidiv eines Adenokarzinoms der Keilbeinhöhle |

Tabelle 1: Patientenkollektiv der mit Photofrin II behandelten Patienten

2.7. Behandlungsprotokoll

Die applizierte Dosis ionisierender Strahlung reichte von 44,4 Gy bis 50,4 Gy. Im Bereich des Beckens wurde eine Boost-Bestrahlung von 14 Gy hinzugefügt. Bei den Astrozytomen betrug die Strahlendosis 30 Gy bei dem Patienten mit Tumorrezidiv, da dieser Patient in der Vergangenheit schon mit 60 Gy bestrahlt worden war, und 40 Gy + 20 Gy Boost bei den anderen Patienten. Der Patient mit dem Rezidiv eines Oropharynxkarzinoms erhielt eine Brachytherapie mit einer Dosis von 30 Gy. Der Patient mit dem Rezidiv eines Keilbeintumors wurde mit 50,4 + 9 Gy Boost bestrahlt.

Allen Patienten wurde 24 Stunden vor Beginn der Strahlentherapie intravenös 1 mg/kg Photofrin II (Axcan, Canada) injiziert.

Aufgrund der bekannten Photosensibilität, die durch Porphyrine ausgelöst wird, wurde den Patienten empfohlen, einen direkten Kontakt mit Licht zu vermeiden und insbesondere ihre Augen in den ersten Tagen nach der Therapie zu schützen [16,17,65]. Alle Patienten wurden in speziell eingerichteten Zimmern untergebracht, die gänzlich vom Sonnenlicht abgeschirmt waren und mit einer Beleuchtung von nicht mehr als 40 Watt ausgestattet waren.

Am Tag vor der ersten Bestrahlung injizierten wir 1 mg/kg Photofrin II (Axcan, Mont Saint-Hilaire, Canada) intravenös. Für Photofrin II als photodynamisches Agens liegt der Bereich der therapeutischen Dosis zwischen 1,0 und 2,5 mg/kg [17]. Da zur Zeit keine Literatur über Photofrin II als strahlensensibilisierender Wirkstoff zur Verfügung steht, erschien die Entscheidung angebracht, mit der bekannten therapeutischen Minimaldosis für die PDT zu behandeln. Hierdurch wollten wir unbekannt Komplikationen vermeiden, die bei der Anwendung am Menschen durch eine eventuelle Überdosierung auftreten könnten. Einige Berichte weisen jedoch darauf hin, dass das Vorhandensein von Porphyrinen während der Bestrahlung die lokalen Nebenwirkungen der Strahlentherapie nicht verstärkt [66,67].

Die relative Konzentration von Photofrin II im Serum der Patienten wurde vor Beginn der Therapie und täglich danach, bestimmt. Die dafür angewandte Methode war eine Ionenpaar-Reversed-phase-HPLC [68], mit Fluoreszenzdetektion nach der Festphasenextraktion, unter Verwendung der reinen Medikamenten-Substanz von Photofrin II zur Kalibrierung.

3. Ergebnisse

3.1. Nebenwirkungsprofil

Zwischen August 2003 und August 2005 wurden insgesamt 12 Patienten in die Studie eingeschlossen. Davon waren sieben männlich und fünf weiblich. Das mittlere Alter betrug 57 ± 19 Jahre (Range 26 bis 84 Jahre).

Innerhalb der Studienpopulation wurden nur geringfügige Nebenwirkungen, wie milde Diarrhö, Übelkeit oder geringe Hautreaktionen beobachtet. Schwerwiegende Nebenwirkungen traten nicht auf.

3.2. Ergebnisse der Studienpatienten

Das mittlere Follow-up der Patienten lag bei 11 Monaten (Range 3-28 Monate).

Tabelle 2 fasst die Ergebnisse der Patienten und die jeweilige Follow-up Zeit zusammen. Eine komplette Remission wurde bei 4/12 Patienten beobachtet (n=1 Beckensarkom, n=1

Cervixcarcinom, n=1 Adenokarzinomrezidiv der Keilbeinhöhle und n=1 Astrozytom, WHO Grad III).

Abb. 2: Patientin mit Zervixkarzinom vor (links) und in der ersten MRT Kontrolle (rechts) nach Radiatio mit Photofrin II



| Pt.-Nr | Diagnose | Follow up | Ergebnisse |
|---------------|---|------------------|---|
| 1 | Zervixkarzinom, FIGO IV | 27 Monate | Vollremission |
| 2 | Sarkom im Becken | 28 Monate | Vollremission |
| 3 | Astrozytomrezidiv, WHO Grad III | 5 Monate | Progredienz nach 5 Monaten, Pt. verstorben |
| 4 | Blasenkarzinom | 12 Monate | 45%-ige Tumorreduktion, R0 Resektion. Pt. aufgrund von Fernmetastasen verstorben, kein Lokalrezidiv |
| 5 | Blasenkarzinom | 4 Monate | Keine Veränderung des Tumorvolumens, Pt. aufgrund von Fernmetastasen verstorben. |
| 6 | Blasenkarzinom | 4 Monate | In der PET nur marginale Tumorvitalität. Pt. aufgrund von Myokardinfarkt verstorben |
| 7 | Lokalrezidiv Blasenkarzinom | 11 Monate | 35-40%-ige Tumorreduktion; Pt. lehnte Operation ab. Nach 12. Monaten lost-to-follow-up In diesem Zeitraum keine Tumorprogredienz. |
| 8 | Astrozytom, WHO Grad III | 15 Monate | Keine Veränderung des Tumorvolumens, Weiterbehandlung mit Chemotherapie. |
| 9 | Astrozytom, WHO Grad III | 14 Monate | Keine Veränderung des Tumorvolumens. In der FET- PET keine Tumorvitalität. |
| 10 | Sarkom im Becken | 16 Monate | 45%-ige Tumorreduktion Weiterbehandlung mit Hyperthermie und Chemotherapie |
| 11 | Adenokarzinomrezidiv der Keilbeinhöhle | 4 Monate | 40%-ige Tumorreduktion. In der FET-PET keine Tumorvitalität. |
| 12 | Oropharynxkarzinomrezidiv | 3 Monate | Keine Veränderung des Tumorvolumens. |

Tabelle 2: Ergebnisse der mit Photofrin II behandelten Patienten

Blasenkarzinom

Die MRT demonstrierte bei der Patientin mit Blasenkarzinom (Patientennummer 4) eine 45%-ige Reduktion des Tumolvolumens (Abb. 3 und 3a). Hierdurch wurde eine komplette Resektion des Tumors (R0) möglich. Der entfernte residuale Tumor bestand histologisch aus fibrösem und nekrotischem Gewebe wie auch aus einigen residualen Zonen mit neoplastischem Gewebe. Zehn Monate nach Abschluss der Behandlung wies die Patientin Abdominal- und Knochenmetastasen auf, in der urologischen Untersuchung und in der CT/MRT Diagnostik konnte aber kein lokales Rezidiv nachgewiesen werden. Die Patientin starb nach einem Jahr aufgrund auf Fernmetastasen. Ein Lokalrezidiv wurde nicht beobachtet.

Bei dem Patient mit einem Rezidiv eines Blasenkarzinoms (Patientennummer 7) wurde eine 30-35%ige Reduktion des Tumolvolumens beobachtet. Der Tumor wurde nun als potentiell resezierbar eingestuft. Der Patient lehnte den chirurgischen Eingriff allerdings ab. Im Rahmen der Nachbeobachtung nach einem Jahr wurde keine richtungsweisende Änderung des Tumolvolumens festgestellt, obwohl keine weitere Behandlung eingesetzt worden war. Der Patient lehnte eine Operation weiterhin ab und erschien nicht mehr zu Nachsorge.

Bei den beiden 80-jährigen Patienten mit Blasenkarzinom (Patientennummern 5 und 6) zeigte die MRT keine Veränderung des Tumolvolumens. Eine PET Untersuchung wies bei einem Patienten eine 90%-ige Reduktion der Tumovitalität auf (Patientennummer 6). Beide Patienten verstarben nach vier Monaten – Patient 5 starb aufgrund von Fernmetastasen, Patient 6 aufgrund eines Myokardinfarktes.

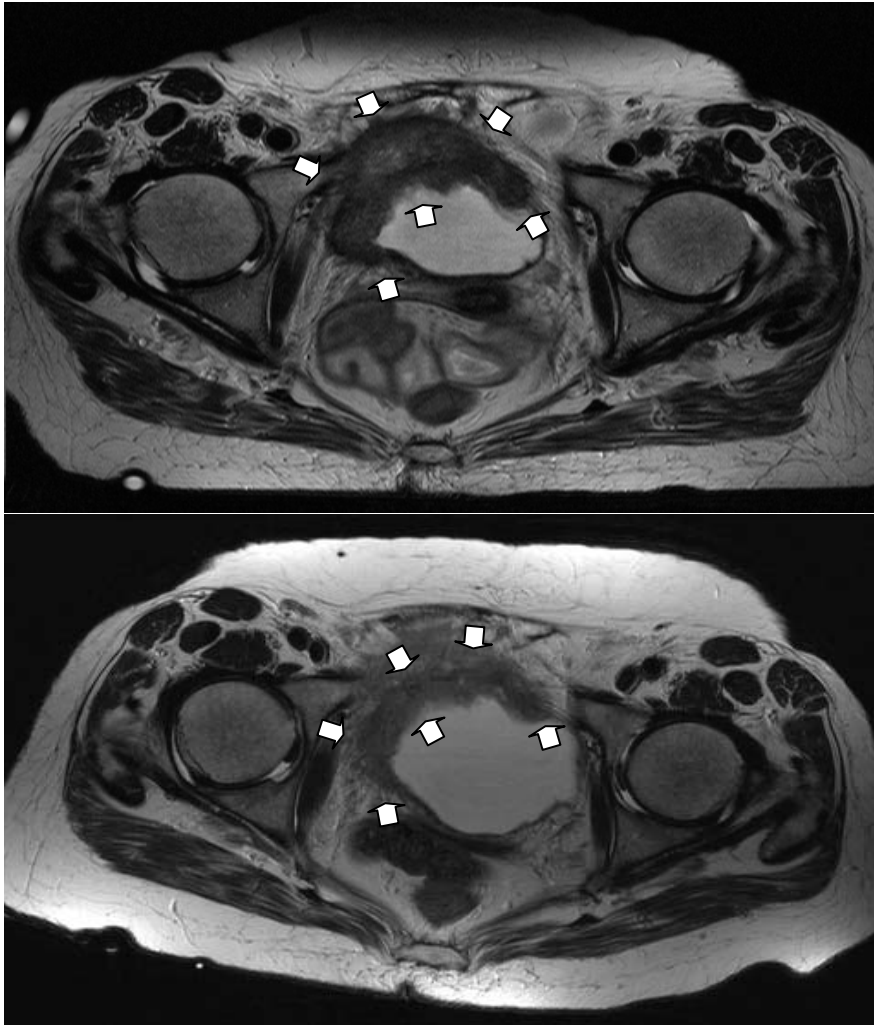


Abb. 3: Patientin mit Blasenkarzinom vor (oben) und in der ersten MRT Kontrolle (unten) nach Radiatio mit Photofrin II

Sarkome

Bei einer Patientin (Patientennummer 2) mit einem Sarkom des Beckens wurde eine Vollremission beobachtet. Die Patientin ist nach einem Follow-up von 28 Monaten in der PET-Kontrolle weiterhin tumorfrei.

Bei der anderen Patientin mit einem Sarkom des Beckens (Patientennummer 10) trat eine über 45%ige Reduktion des lokalen Tumolvolumens auf. Die Patientin wurde weiter kombiniert mit Chemotherapie und Hyperthermie behandelt.

Zervixkarzinom

Bei der Patientin mit einem Zervixkarzinom / FIGO IV (Patientennummer 1) kam es zu einer Vollremission. Auch im Follow-up nach 27 Monaten wurde kein Rezidivtumor festgestellt.

Oropharynxkarzinom

Bei dem Patienten mit Oropharynxkarzinom (Patientennummer 12) wurde ein stabiler Krankheitsverlauf beobachtet. Ein Tumorprogress war im kurzfristigen Follow-up nicht zu verzeichnen. Der Patient wurde mit Chemotherapie weiterbehandelt.

Astrozytome

Bei einem Patienten mit einem Rezidiv eines Astrozytoms WHO Grad III (Patientennummer 3) trat nach fünf Monaten eine lokale Tumorprogression auf. Der Patient verstarb aufgrund des progredienten Tumorwachstums.

Bei den beiden anderen Patienten mit Astrozytoms WHO Grad III (Patientennummern 8 und 9) wurde bei einem Follow-up von 14 Monaten ein stabiler Krankheitsverlauf beobachtet. Patient 8 wurde chemotherapeutisch weiterbehandelt. Bei Patientin 9 zeigte sich in der MRT kein Tumorprogress. Die FET-PET Kontrolle zeigt weiterhin auch nach 14 Monaten keine Tumurvitalität.

Adenokarzinom der Keilbeinhöhle

Bei dem Patienten mit einem Rezidiv eines Adenokarzinoms der Keilbeinhöhle zeigte sich in der initialen MRT Kontrolle eine etwa 40%-ige Reduktion des Tumolvolumens.

Im weiteren, kurzfristigen Verlauf ergab sich keine weitere Änderung des Tumolvolumens. Die FET-PET Kontrolle zeigt weiterhin nach 4 Monaten keine Tumurvitalität.

3.3. Pharmakokinetisches Verhalten von Photofrin II®

Die Bestimmung des pharmakokinetischen Verhaltens von Photofrin II® im Serum erfolgte mit Hilfe von spektrophotofluorimetrischen Methoden anhand von Blutproben, die bis zum 45. Tag nach i.v. Injektion entnommen wurden [68]. Aus Abb. 4 ist ersichtlich, dass alle Patienten etwa 1h vor Injektion von Photofrin II® ein niedriges Basisniveau an Fluoreszenz in der Analyse zeigten, das durch endogene Porphyrine hervorgerufen wird [64, 72]. Der Abfall des Photofrin II®-Niveaus folgte einer zweiphasigen Kinetik. In der ersten, schnellen Phase erfolgte eine Clearance von 90% des Porphyrins innerhalb von fünf Tagen. In der zweiten, langsamen Phase wird das Basisniveau an Porphyrinen im Blut erst nach 35-45 Tagen erreicht. Diese Daten stimmen mit den aus der PDT bekannten Daten überein [65]. Die Photosensibilität ist hierbei nur mit der schnellen Phase assoziiert [32].

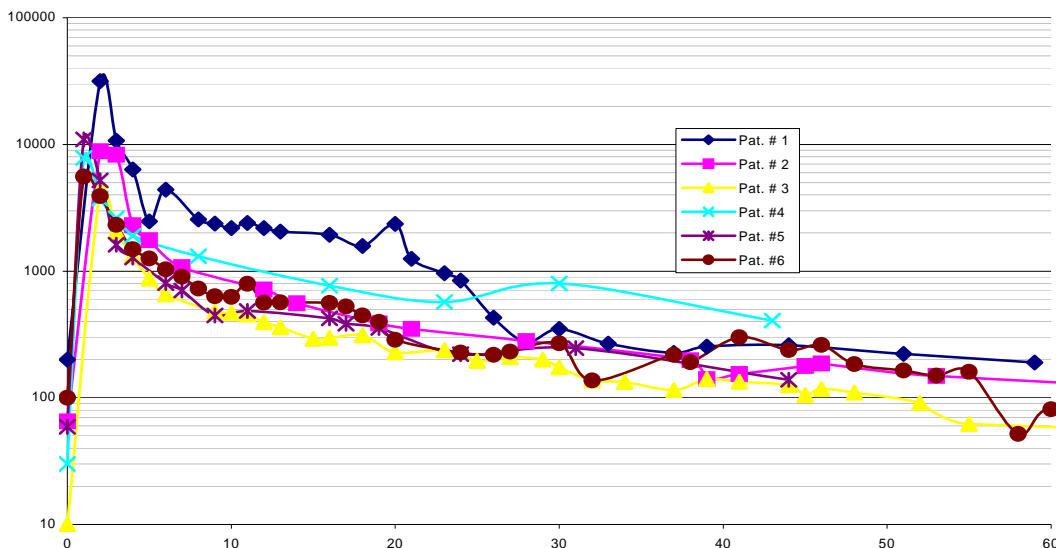


Abb. 4: Darstellung des Photofrin-Äquivalents im Serum bei sechs Patienten

4. Diskussion

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass Photofrin II[®] unter geeigneten Verabreichungsbedingungen als Strahlensensitizer wirken kann. Selbst bei höchst strahlenresistenten Tumoren wie Glioblastomen und Harnblasentumoren [60-63] konnte in dieser Pilotstudie ein strahlensensibilisierender Effekt der Substanz nachgewiesen werden .

Vorarbeiten hatten hingegen gezeigt, dass Photofrin II[®] alleine – also ohne Anwendung ionisierender Strahlen - genau wie sein weniger gereinigtes Analogon HpD - keine signifikante Reduktion des Tumolvolumens verursacht [39, 40, 42, 43, 45].

Zudem wurde in anderen Arbeiten dargestellt, dass andere kommerziell erhältliche Porphyrine keinen strahlensensibilisierenden Effekt haben und somit nur als Photosensitizer für die PDT verwendet werden können [5, 6]. Als Ausnahme muss hier Gadolinium-Texapyrin (Gd-Tex) genannt werden, das sich in vivo und in vitro als Strahlensensibilisator herausstellte [48, 49, 50-52, 54, 56, 57, 74]. Seine Effizienz ist allerdings nicht unumstritten [58]. Eine strahlensensibilisierende Wirkung zeigten auch synthetische Metallporphyrine [75].

Der Mechanismus des Effektes von Strahlensensibilisatoren beruht im Allgemeinen auf der Imitation der Wirkung von Sauerstoff und somit auf der Verstärkung des durch die ionisierenden Strahlen verursachten Schadens. Die am häufigsten klinisch untersuchten Radiosensitizer sind die Nitroimidazole, deren Anwendung in einem konventionellen, täglichen Bestrahlungsregime jedoch durch ihre Neurotoxizität verhindert wird [1, 3, 13].

Zur Zeit werden weitere Substanzen, wie Tirapazamin [76, 77], RSR 13 [15] und mit Polyethylenglykol (PEG) modifiziertes Rinderhämoglobin [78] als Radiosensitizer für hypoxische Tumorzellen untersucht.

Im Gegensatz zu anderen Photosensitizern reichert sich Photofrin II[®] bevorzugt in soliden Tumoren und nicht in Haut- oder Muskelgewebe an [16-18, 28, 35, 36, 79] und könnte so eine kombinierte

Verwendung als photo- und radiosensibilisierendes Agens ermöglichen. Hieraus ergibt sich die einzigartige Perspektive, dass die kombinierte, konzertierte Wirkung beider Therapiemethoden zur besseren Kontrolle des Tumorwachstums eingesetzt werden könnte.

Der genaue Wirkmechanismus von Photofrin II[®] als Radiosensitizer ist derzeit noch nicht bekannt. Ein detailliertes Verständnis der Mechanismen, die Photofrin II[®] zu einem Radiosensitizer machen, wird dadurch erschwert, dass es sich bei dieser Substanz um eine sehr heterogene chemische Zusammensetzung handelt.

Der Wellenlängenbereich der Photoaktivierung von Photofrin II[®] befindet sich zwischen 350-800nm, wohingegen der Wellenlängenbereich einer therapeutischen Bestrahlungseinheit mit 12 MeV zwischen $6 \cdot 10^{-3}$ bis $8 \cdot 10^{-3}$ nm und der in den Experimenten verwendeten Röntgen-Geräte zwischen $8 \cdot 10^{-2}$ und 10nm liegt. Somit ist als Wirkmechanismus eine direkte Wechselwirkung zwischen dem Porphyrin und der simultanen Bestrahlung unwahrscheinlich.

Zur Erklärung des Phänomens der Strahlensensibilisierung gibt es zwei Hypothesen:

1. Bei der Interaktion zwischen Röntgenstrahlen und Wasser entstehen aktivierte und zytotoxische Moleküle wie Hydroxyl-Radikale. Photofrin II[®] reagiert mit diesen, führt so zu einer verstärkten Radiolyse des Wassers und damit zu der Radiosensibilisierung [2]. Für Gd-*Tex* wurde ein ähnlicher Mechanismus gezeigt. Dieses bildet nach Reaktion mit hydratisierten Elektronen, reduzierenden Ketyl-Radikalen oder Superoxid-Ionen ein langlebiges und hochreaktives p-Radikal-Ion [49].
2. Photofrin II[®] verhindert die Induktion von Reparaturprozessen und fixiert so den Strahlenschaden an den Zellen. Die durch ionisierende Strahlung verursachten subletalen Schäden können sich zu einem letalen Schaden entwickeln oder Reparaturmechanismen stimulieren. Hier könnte Photofrin II[®] angreifen und durch Bindung an Reparaturproteine deren Effizienz reduzieren. Es wurde bereits nachgewiesen, dass Photofrin II[®] in geringem Ausmaß an verschiedene Serum- oder Membran-Proteine bindet [80].

Die Daten unserer Arbeitsgruppe unterstützen die erste Hypothese, laut der das Photofrin II[®] mit OH-Radikalen aus der Radiolyse des Wassers reagiert. Ihre hohe intrinsische Reaktivität erlaubt es ihnen, den Abbau einer großen Anzahl verschiedener Biomoleküle zu beschleunigen [2]. So könnte auch Photofrin II[®] mit seinen großen Oligomeren (Molekulargewicht bis 5.000 Dalton) [20] ein wichtiges Ziel für diese Radikale sein.

Die strahlensensibilisierenden Komponenten des Photofrins II[®] sind wahrscheinlich die oligomeren hydrophoben Anteile, da weder Hp, noch Protoporphyrin, das in HpD in relativ großen Mengen als monomerer Anteil vorkommt, eine detektierbare strahlensensibilisierende Wirkung gezeigt haben [5, 6]. Es gibt Hinweise, dass die oligomeren Anteile des Photofrin II[®] in biologischen Medien stark aggregieren, um hochhydrophobe pseudomizelläre Strukturen zu bilden [29, 35]. Gerade diese Hydrophobie begünstigt die Anreicherung im Tumorgewebe.

Die Ergebnisse zur Anwendung von Photofrin II[®] bei 12 Patienten im Rahmen der vorliegenden Studie zeigen, dass Photofrin II[®] unter geeigneten Bedingungen ein effizienter Radiosensitizer für die Therapie von soliden Tumoren sein kann. Auf die kombinierte Therapie mit akzelerierter Radiotherapie und Photofrin II[®] zeigten die Tumoren dieser Patienten trotz ihrer üblicherweise hohen Strahlenresistenz ein gutes Ansprechen bei minimalen Nebenwirkungen. Die optimale Dosis gilt es hierbei noch im Rahmen von Dosis-Eskalationsversuchen zu bestimmen. Die üblichen, lokalen Nebenwirkungen der Radiotherapie wurden durch die Porphyrine nicht wesentlich verstärkt [66, 67].

Die Wirksamkeit des Photofrins II[®] als Strahlensensibilisator für Tumoren ist aus verschiedenen Gründen von besonderem Interesse:

1. Da Photofrin II[®] für die PDT zugelassen ist, ist seine Verwendung für die Radiotherapie erleichtert, da aufwendige und teure toxikologische Studien weitgehend entfallen können.
2. Photofrin II[®] zeigt im Gegensatz zu anderen Substanzen eine Tumorgewebsselektivität und keine detektierbare Toxizität im therapeutischen Bereich [1-3, 16, 17, 29].

3. Der mögliche Einsatz von Photofrin II[®] als Photo- und Radiosensitizer öffnet die Möglichkeiten zu einer kombinierten Behandlung mit photodynamischer Therapie und Bestrahlung zur besseren Tumorkontrolle.

Der optimale Zeitraum zur Applikation von Photofrin II[®] scheint während der Beschränkung des Zielvolumens der Radiotherapie auf das Tumolvolumen gegeben zu sein, also während einer Brachytherapie, einer Hochpräzisionsbestrahlung, eines Afterloadings oder einer Boostbestrahlung. Die maximale therapeutische Konzentration von Photofrin II[®] wird 24 bis 72 Stunden nach der Injektion im Tumorgewebe erreicht [16, 17, 28, 29]. Deshalb sollte die ionisierende Strahlung innerhalb dieses Zeitraums verabreicht werden. Möglich wäre auch die Durchführung einer einmaligen intraoperativen Bestrahlung.

Eine mögliche Einschränkung des Einsatzes von Photofrin II[®] in der Radiotherapie könnte sich aus der Photosensibilisierung der Haut ergeben. In unserer Patientenpopulation hatten sich bei einer Dosis von 1mg/kg keine höhergradigen Nebenwirkungen ergeben. Es hatten sich lediglich geringe Hautreaktionen gezeigt. Allerdings muss der Patient für eine von Patient zu Patient unterschiedliche Zeit vor Sonnenlicht geschützt und in einem besonders ausgestatteten Raum mit einer Beleuchtung von maximal 40-60 Watt untergebracht werden. Die Metabolisierung und der Abbau von Photofrin II[®] sind hauptsächlich an die Leberfunktion und an den allgemeinen Stoffwechsel des einzelnen Patienten gebunden. Die Hautempfindlichkeit ist nicht dosisabhängig [65]. Gemäß der Literatur zu PDT veröffentlichten Daten, ~~hatten~~ wiesen einige Patienten, die eine relativ niedrig dosierte Injektion (1mg/kg) erhalten hatten, eine länger anhaltende Hautempfindlichkeit auf als Patienten, bei denen 2,5 mg/kg injiziert wurden [65]. Bei einer PDT mit 4,5 mg/kg Photofrin II[®] war die Hautempfindlichkeit im Vergleich zu niedrigeren Dosen nicht erhöht [81].

Folgende Maßnahmen erscheinen jedoch empfehlenswert, um Komplikationen zu vermeiden:

1. Die Patienten sind während der ersten Tage nach Injektion von Photofrin II[®] vor Licht zu schützen.

2. Die Photofrin II[®]-Konzentration im Blut sollte vor Beginn der Therapie und dann täglich gemessen werden. Eine Ionenpaar-Reversed-phase-HPLC (High Performance Liquid Chromatograph = Hochleistungsflüssigkeitschromatograph) mit einer Fluoreszenzdetektion nach der Festphasenextraktion eignet sich hierzu am besten. Kalibriert sollte mit der reinen Arzneimittelsubstanz werden [8, 68]. Die Photofrin II[®]- Ausscheidung scheint sowohl vom Metabolismus des Körpers als auch vom sogenannten „photobleaching“ (Degenerierung des Porphyrins durch Licht) abhängig zu sein [17].

Die beobachtete Reduktion des Tumorumfanges bei einem Teil unserer Patienten kann klinisch als durchaus bedeutsam gewertet werden, da bekannt ist, dass Blasenkarzinome sehr strahlenresistent sind [60, 62]. Ein Vergleich mit anderen, in der Strahlentherapie angewandten Therapiemethoden ist schwierig, da es sich um eine Vielzahl verschiedener therapeutischer Protokolle handelt, die zum einen verschiedene Dosierungsschemata mit unterschiedlichen chemischen Substanzen anwenden und zum anderen unterschiedliche Tumorstadien mit variablem histologischem Grading einschließen [69-71].

Einschränkend ist zu sagen, dass unsere Studie als Pilot- und Phase I-Studie konzipiert war, und unsere Patientenpopulation relativ klein war. Um umfassende Aussagen zu einer Wirksamkeit der Substanz als Strahlensensibilisator zu machen, sind größere Studien notwendig.

Die Wirksamkeit und Sicherheit einer kombinierten Therapie aus Photofrin II[®] und einer Strahlentherapie wird derzeit in Phase I/II-Studien untersucht. Beurteilt wird ebenfalls die Rolle von selektierten experimentellen Parametern in der Modulation der Tumorantwort. Ferner interessieren auch die optimale Strahlendosis, das Zeitintervall zwischen Photofrin II[®]-Injektion und Bestrahlung und die niedrigste Photofrinkonzentration, die eine Tumorresponse erzeugt.

Die Koppelung von Photofrin II[®] mit Kontrastmitteln wie Gadolinium oder Mangandipyridoxyl-5'-diphosphat (Mn-DPDP) [82, 83] könnte mit dem Ziel untersucht werden, diagnostische Methoden mit Behandlungsmethoden zu kombinieren [47-59]. Es wurden auch schon paramagnetische

Metalloporphyrine als Kontrastmittel oder Strahlensensibilisator vorgeschlagen [84-87] oder eine Kombination von Mn mit Hämatoporphyrin als Kontrastmittel [88].

Interessant ist auch die Verwendung von mit Bor funktionalisierten Porphyrinen für den Bor-Neutroneneinfang (BNCT) zur Behandlung von bösartigen Hirntumoren [31, 74].

Insgesamt ist Photofrin II[®] gerade aufgrund folgender Eigenschaften ein nützliches Agens für die Behandlung von Tumoren:

1. Es verstärkt die Wirkung von ionisierenden Strahlen auf Tumoren, aber nicht auf das umgebende, gesunde Gewebe.
2. Es fördert Mechanismen, die gegen hypoxische Zellen aktiv sind.
3. Es hat eine niedrige intrinsische Toxizität.

Größere Studien – bis hin zu randomisierten Studien mit multizentrischem Ansatz - sind notwendig, um die Effektivität der Substanz zu belegen. Die vorliegenden Ergebnisse unserer Pilot- und Phase I-Studie erscheinen jedoch ermutigend.

5. Zusammenfassung

Die für viele Tumorarten relativ geringe Selektivität ionisierender Strahlung kann durch computergesteuerte Bestrahlungsprotokolle und den Einsatz verschiedener Strahlenarten verbessert werden. Die biologische Strahlenwirkung betrifft sowohl neoplastisches als auch gesundes Gewebe und ist von biochemischen und physiologischen Faktoren wie Sauerstoffversorgung oder Zellzyklus abhängig [2]. Eine Modifikation kann durch chemische Agenzien wie Radiosensitizer, Radioprotektoren und Chemotherapeutika erreicht werden [1, 3] und ist wichtig, um einen maximalen Effekt auf den Tumor und einen minimalen Effekt auf das gesunde Gewebe zu erreichen. Jedoch sind die meisten Radiosensitizer weder selektiv noch tumorspezifisch.

Photofrin II[®] ist die purifizierte Form von HpD [22], einer Substanz, die sich bevorzugt in Tumoren anreichert und die eine strahlensensibilisierende Wirkung besitzt [39-41].

Ziel der vorliegenden Arbeit war es herauszufinden, ob eine klinische Anwendung von Photofrin II[®] in der Strahlentherapie möglich und zu definieren ist.

Hierbei sind die Ergebnisse der vorliegenden klinischen Pilot- und Phase I-Studie vielversprechend [8, 9]. Es sollten zur genaueren Evaluierung der Methode weitere Studien zur Dosisfindung und schließlich eine randomisierte Studie angeschlossen werden.

Die Behandlung von Krebspatienten hat sich zu einer komplexen Verflechtung von Entscheidungsprozessen entwickelt, bei denen eine enge Integration von fundamentalen Konzepten und komplizierten Technologien notwendig wird. Diese enge Integration erstreckt sich von der Evaluierung und Einschätzung des Tumorstadiums bis zur Therapie mit Hilfe verschiedener Behandlungsmodalitäten unter Berücksichtigung der Lebensqualität des Patienten. Unsere Ergebnisse zum Einsatz von Photofrin II[®] als Strahlensensibilisator eröffnen eine potentiell vielversprechende Möglichkeit, die Strahlentherapie solider Tumoren effektiver zu gestalten.

6. Literaturverzeichnis

1. **Wasserman** T H, Chapman J D.
Chemical modifiers of radiation.
In: Principles and practice of Radiation Oncology, Perez C A, Brady L W, Eds.; Lippincott-Raven Publisher: Philadelphia Chapter 23: 663-698,2004.
2. **McBride** WH, Withers HR.
Biologic basis of radiation therapy.
In: Principles and practice of Radiation Oncology, Perez C A, Brady L W. Eds.; Lippincott-Raven Publisher, Philadelphia, Chapter 2: 96-136, 2004.
3. **Urtasun** RC.
Chemical modifiers of radiation.
In: Radiation Physics and Biology.
Leibel S A, Philips TL, Eds.; W.B. Saunders Comp, Philadelphia, Chapter 3: 42-54, 1998.
4. **Schaffer** M, Schaffer PM, Corti L, Sotti G, Hofstetter A, Jori G, Dühmke E.
Photofrin II as an efficient radiosensitising agent in an experimental tumour. *Onkologie* 24:482-485, 2001a.
5. **Schaffer** M, Schaffer PM, Jori G, Corti L, Sotti G, Hofstetter A, Dühmke E. Radiation Therapy combined with Photofrin or 5-ALA - effect on Lewis Sarcoma Tumor lines implanted on mice-preliminary results.
Tumori 88:408-411,2002a.
6. **Schaffer** M, Schaffer PM, Corti L, Gardiman M, Sotti G, Hofstetter A, Jori G Dühmke E.
Photofrin as a specific radiosensitising agent for tumors: studies in comparison to other porphyrins, in an experimental in vivo model.
J Photochem Photobiol B: Biol 66: 157-64,2002b.

-
7. **Schaffer M**, Schaffer PM, Hofstetter A, Dühmke E, Jori G.

On the double role of photofrin as a photo-and a radiosensitising agent: a possible new combination therapy for tumours .

Photochemical & Phobiological Science 1: 438-439, 2002c.

8. **Schaffer M**, Schaffer P, Vogesser M, Ertl-Wagner B, Rauch J, Oberneder R, Jori G, Hofstetter A, Dühmke E.

The application of Photofrin II as a specific radiosensitizing agent, in patients with bladder cancer, report of two cases.

Photochemical & Phobiological Science 1: 686-689, 2002d.

9. **Schaffer M**, B. Ertl-Wagner, P.M. Schaffer, U. Kulka, G. Jori, E. Dühmke, A. Hofstetter.

The application of Photofrin II as a sensitizing agent for ionizing radiation- a new approach in tumor therapy?.

Current Medicinal Chemistry, 12, 763-771, 2005 a

10. **Schaffer M**, U. Kulka, B. Ertl-Wagner, P.M. Schaffer, G. Jori, E. Friso, R. Hell, A. Hofstetter, E. Dühmke

Effect of Photofrin II as a radiosensitizing agent in two different oesophageal carcinomacell lines.

accepted for publication in *The Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*

11. **Kulka U**, Schaffer M, Schaffer PM, Ertl-Wagner B, Jori G, Dühmke E, Hofstetter A.
Photofrin as an efficient radiosensitizer in an i vitro cell survival assay.
Biochemical & Biophysical Research Communication 311:98-103, 2003.
12. **Bentzen SM**, Grau C.
Direct estimation of the fraction of hypoxic cells from tumor control data obtained under aerobic and clamped conditions.
Int J radiat Biol 59:1435-1440, 1991.
13. **Khalil A A**, Bentzen SM, Overgard J.
Steepness of the dose-response curve as a function of volume in an experimental tumor irradiated under ambient or hypoxic conditions.
Int J Radiation Oncology Biol Phys 39: 797-802, 1997.
14. **Thomlinson RH** Gray LH.
The histological structure of some human lung cancer and the possible implications for radiotherapy.
Br J Cancer 9:539,1955.
15. **Amorino GP**, Lee H, Holburn GE, Paschal CB, Hercules SK, Shyr Y, Steffen RP, Choy H:
Enhancement of tumor oxygenation and radiation response by the allosteric effect of hemoglobin, RSR13.
Radiat Res 156(3) : 294-300, 2001.

16. **Stewart F**, Baas P, Star W.

What does photodynamic therapy have to offer radiation oncologist (or their cancer patients)?.

Radiotherapy and Oncology 4, 233-248,1998.

17. **McDonald IJ**, Dougherty TJ.

Basic principles of photodynamic therapy.

J Porphyrins Phthalocyanines 5 : 105-129 :2001.

18. **Schmidt-Erfurth U**, Miller J, Sickenkey M.

Photodynamic therapy for choroidal neovascularization in a phase II study.

Assoc Res Vision Ophthalmology 38: 74-75,1997.

19. **Strauss W**.

Photosensibilisatoren.

In: Klinische Fluoreszenzdiagnostik und Photodynamische Therapie.

Szeimies RM, Jocham D, Landthaler, Hrsg., Blackwell Verlag , 29-38, 2002.

20. **Foot CS**.

Photooxidation of biological model compounds.

In: Rodgers M.A.J. and Powers E.L (eds) Oxygen and Oxy-radicals in Chemistry and Biology,

Academic Press, New- York: 425-440, 1981

21. **Jori G**.

In vivo transport and pharmacokinetic behaviour of tumor photosensitizers.

In :Photosensitizing compounds: their chemistry, biology and clinical use;

Bock G.; Harnett S.; Eds.; Ciba Foundation Symposium, Wiley Co: Chichester : 78-94,1989.

-
22. **Byrne** CJ, Morshallsay LV, Wand AD.
The chemical composition of Photofrin.
J Photochem Photobiol B: Biol 6:13-27 1990.
23. **Calzavara** F, Tomio L, Corti L, Zorat PL, Barone I, Peracchia A, Norberto L, Dàrcais, RF, Berti F.
Oesophageal cancer treated by photodynamic therapy alone or followed by radiation therapy.
J Photochem Photobiol B: Biol 6: 167-174, 1990.
24. **Corti** L, Skarlatos J, Boso C, Cardin F, Kosma L, Koukourakis MI, Giatromaolaki A, Norberto L, Schaffer M., Beroukas K.
Outcome of patients receiving photodynamic therapy for early esophageal cancer.
Int J Radiation Oncology Biol Phys 47 :419-424, 2000.
25. **Graschew** G, Shopova M.
Hypoxia, misonidazole and hyperthermia in photodynamic therapy of tumors.
Laser in Medical Science 1:181-186,1986.
26. **Mang** TS.
Combination studies of hyperthermia induced by Nd-YAG laser to PDT.
Lasers Surg Med 10: 173-178, 1990.
27. **Bellnier** DA, Ho YK, Pandey RK, Missert JR, Dougherty TJ:
Distribution and elimination of photofrin II in mice.
Photochem Photobiol 50: 221-228, 1989.

28. **Orenstein** A, Kostenich G, Roitman Y, Kopolovic Y, Ehrenberg B, Malik Z.

A comparative study of tissue distribution and photodynamic therapy selectivity of chlorin e-6, Photofrin II and ALA- induced protoporphyrin IX in a carcinoma model. Br J Cancer 73: 937-944,1996.

29. **Pass** HI.

Photodynamic therapy in oncology: mechanisms and clinical use.

J Natl Cancer Inst 85 :443-456,1993.

30. **Gomer** CJ, Ferrario A.

Tissue distribution and photosensitizing properties of mono-L-aspartyl chlorin e6 in a mouse tumor model.

Cancer Res 50 :3985-3990, 1990.

31. **Ceberg** CP, Brun A, Kahl SB, Myoung SK, Persson BRR, Salford LG.

A comparative study on the pharmacokinetics and biodistribution of boronated porphyrin (BOPP) and sulfhydryl boron hydride (BSH) in the RG2 rat glioma model.

J Neurosurg 83/1: 86-92, 1995.

32. **Spikes** JD, Jori G.

Photodynamic therapy of tumours and other diseases.

Lasers Med Sci 2: 3-15, 1987.

33. **Gerweck** LE, IK:

Cellular pH gradient in tumor versus normal tissue: potential exploitation for the treatment of cancer.

Cancer Res 56:1194-8,1996.

34. **Ochsner M.**

Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours.

J. Photochem Photobiol B: Biol 39: 1-18, 1997.

35. **Allison BA, Pritchard PH, Levy JG:**

Evidence for low-density lipoproteins receptor mediated uptake of benzoporphyrin derivative.

Br J Cancer 69: 833-839, 1994.

36. **Allison BA, Waterfield E, Richter AM, Levy JG:**

The effect of plasma lipoproteins on in vitro tumor cell killing and in vivo tumor photosensitization with benzoporphyrin derivate.

J Photochem Photobiol 54: 709-15, 1991.

37. **Chan WS, McRobert AJ, Philips D, Hart IR.**

Use of charge coupled device camera for imaging of intracellular phtalocyanines.

Photochem Photobiol 50: 617, 1989.

38. **Pottier R, Kennedy JC.**

The possible role of ionic species in selective biodistribution of photochemotherapeutic agents toward neoplastic tissue.

J Photochem Photobiol B: Biol 8: 1-16, 1990.

39. **Schwartz S, Absolon K, Vermund H.**

Some relationships of porphyrins, X-rays, and tumors.

University of Minnesota, Medical Bulletin 27 :7-13,1955.

40. **Schwartz S**, Krepios N, Modelevsky J, Freyholz H, Waltens R, Larson L. Modification of radiosensitivity by porphyrins: studies of tumors and other systems.
In :Diagnosis and Therapy of Porphyrins and Lead Intoxication
Doss M. Eds., Springer Verlag: Berlin 227 –235, 1978.
41. **Cohen L**, Schwartz S.
Modification of radiosensitivity by porphyrins II. Transplanted rhabdomyosarcoma in mice.
Cancer Res 26 : 1769-1773,1966.
42. **Bloznelyte L**.
Photodynamic and gammadynamic therapy some recent developments. In: Proceeding of optical methods for tumor treatment and detection: mechanism and techniques in photodynamic therapy II, Dougherty T J, Katzir A.Eds; SPIE, Volume 1881: 48-51, 1993.
43. **Chen DY**.
The use of hematoporphyrin derivative (HpD) as a sensitizer to radiation therapy in treatment of S 180 mice.
Treat Laser 5: 137, 1985.
44. **Cittadini G**, Lanfredini L, Mancini G.
Effeti dell' ematoporfirina sulla radiosensibilita`in vitro delle cellule tumorali ATPC+.
Boll Soc Ital Sper 45 : 1298-1301, 1969.

45. **Kostron H**, Shwartz M, Miller DC, Martuza R.

The interaction of hematoporphyrin derivative, light and ionizing radiation in rat glioma model.

Cancer 57 : 964-970,1986.

46. **Bellnier DA**, Dougerthy TJ:

Haematoporphyrin derivative photosensitization and γ -radiation damage interaction in chinese hamster ovary fibroblasts.

Int J Radiat Biol 50: 659-664, 1986.

47. **Kavarnos G**, Nath R, Bongiorno P.

Visible light and X irradiation of chinese hamster lung cells treated with hamatoporporphyrin derivative.

Rad Res 137: 196-201,1994.

48. **Sessler JL**, Miller RA.

Texaphyrins: new drugs with diverse clinical application in radiation and photodynamic therapy.

Biochem Pharmacol 59: 733-739,2000.

49. **Young SW**, Qing F, Harriman A, Sessler JL, Dow WC, Mody TD, Hemmi GW, Hao Y, Miller RA.

Gadolinium (III) texaphyrin: A tumor selective radiation sensitizer that is detectable by MRI.

Proc Nat Acad Sci USA 93: 6610-6615, 1996.

-
50. **Carde P**, Timmerman R, Mehta M, Koprowski CD, Ford J, Tishler RB, Miles D, Miller RA, Renschler MF.
Multicenter phase Ib/II trial of radiation enhancer motexafin gadolinium in patients with brain metastases.
J Clin Oncol 19:2074-2083, 2001.
51. **Mehta MP**, Shapiro WR, Glantz MJ, Patchell RA, Weitzner MA, Meyers CA, Schultz CJ, Roa WH, Leibenhaut M, Ford J, Curan W, Phan S, Miller RA, Renschler MF.
Lead in phase to randomized trial of motexafin gadolinium and whole brain radiation for patients with brain metastases. Centralized assessment of magnetic resonance imaging, neurocognitive, and neurologic end points.
J Clin Oncol 16, 3445-3453, 2002.
52. **Miller RA**, Woodburn K, Fan Q, Renschler MF, Sessler JL, Koutcher JA.
In vivo animal studies with gadolinium (III) texaphyrin as a radiation enhancer.
Int J Radiat Oncol Biol Phys 45: 981-989, 1999.
53. **Rosenthal DI**, Becerra CR, Toto RD, Carbone DP, Frenkel EP.
Reversible renal toxicity from high single doses of the new radiosensitizer gadolinium texaphyrin.
Am J Clin Oncol 23: 593-598, 2000.
54. **Rosenthal DI**, Nurenberg P, Becerra CR, Frenkel EP, Lum BL, Miller R, Engel J, Young S, Miles D, Renschler MF.
A phase I single-dose trial of gadolinium texaphyrin (Lu-Tex), a tumor selective radiation sensitizer detectable by magnetic resonance imaging.
Clin Cancer Res 4: 739-745, 1999.
55. **Rowinsky EK**.

Novel radiation sensitizers targeting tissue hypoxia.

Oncology 13(Suppl 5): 61-70, 1999.

56. **Viala J**, Vanel D, Meingan P, Lartigau E, Carde P, Renschler MF.

Phases IB and II multidose trial of gadolinium texaphyrin, a radiation sensitizer detectable at MR imaging: preliminary results in brain metastases.

Radiology 212:755-759, 1999.

57. **Xu S**, Zakian K, Thaler H, Matei C, Alfieri A, Chen Y, Koutcher JA.

Effects of motexafin gadolinium on tumor metabolism and radiation sensitivity.

Int J Radiat Oncol Biol Phys 49: 1381-1390, 2001.

58. **Bernhard EJ**, Mitchel JB, Deen D, Cardel M, Rosenthal DI, Brown JM.

Re-evaluating gadolinium (III) texaphyrin as a radiosensitizing agent.

Cancer Res 60 :86-91, 2000.

59. **Step H**.

5-ALA-Biophysics.

In: Fluorescence Diagnosis of Bladder Tumors- Fundamentals and Results. Hrsg.: Baumgartner R, Kriegmair M, Hofstetter A. Endo -Press, Tuulingen, 37-48, 1998.

60. **Ahlering TE**, Dubeau L, Jones PA:

A new in vivo model to study invasion and metastasis of human bladder carcinoma.

Cancer Res 47 , 6660-6665,1997.

61. **Budach W**, Gioioso D, Taghian A, Stuschke M, Suit HD.

Repopulation capacity during fractionated irradiation of squamous cell carcinoma and glioblastomas in vitro.

Int J Radiat Oncol Biol Phys 39: 743-7450, 1997.

62. **Fickweiler S**, Steinbach P, Wörle K, Hofstädter F.

The combined effects of high energy shock waves and ionising radiation on human bladder cancer cell line.

Ultrasound in Med & Bio 22 : 1097-1102, 1996.

63. **Taghian A**, DuBios W, Budach W.

In vivo radiation sensitivity of glioblastoma multiforme.

Int J Radiat Oncol Biol Phys 32:99-104,1995.

64. **Schaffer M**, Ertl-Wagner B, Schaffer PM, Kulka U, Hofstetter A, Dühmke

E, Jori G.

Porphyrins as radiosensitizing agents for solid neoplasms.

Current Pharmaceutical Design. 9 (25):2024-35, 2003.

65. **Dougherty TJ**, Cooper MT, Mang TS.

Cutaneous phototoxic occurrences in patients receiving Photofrin.

Lasers in Surgery and Medicine 10, 485-485, 1990.

66. **Scarlet JD**, Corry J, Jeal PN. Cytotoxic and radiotherapy in patient with breast cancer and variegate porphyria .

Aus NZ J Med (letter) 25: 742-743, 1995.

67. **Schaffer M**, Schaffer PM, Panzer M, Wilkowski R, Dühmke E.

Porphyrias associated with malignant tumors: results of treatment with ionizing irradiation.

Onkologie 24:170-172, 2001b.

68. **Vogeser M**, Schaffer M, Egeler E, Spöhrer U.

Development of an HPLC method for monitoring of Photofrin II therapy

Clinical Biochemistry, 38, 73-78, 2005

69. **Gospodarowicz M**.

Radiotherapy and organ preservation in bladder cancer: are we ignoring evidence?

J Clin Oncol 20:3048-3050, 2002.

70. **Näslund** IB, Nilson B, Littbrand B.

Hyperfractionated radiotherapy of bladder cancer: a ten year follow up a randomized clinical trial.

Acta Oncol 33: 397-402, 1994.

71. **Rödel** C, Grabenbauer GG, Kühn R, Papadopoulos Th, Dunst J, Meyer M, Schrott KM, Sauer R.

Combined modality treatment and selective organ preservation in invasive bladder cancer: long term results.

J Clin Oncol 20:3061-3071, 2002.

72. **Vincent** SH, Muller-Eberhard U.

Effects of porphyrins on proteins of cytosol and plasma. In vivo phot-oxidation and cross-linking of proteins by naturally occurring and synthetic porphyrins.

J Lab Clin Med 110(4):475-82, 1987.

73. **Kulka** U, Schaffer M, Schaffer PM, Ertl-Wagner B, Jori G, Dühmke E, Hofstetter A.

Untersuchungen zum Mechanismus der radiosensitivierenden Wirkung von Photofrin II.

Strahlentherapie und Onkologie ,Band 181, Sondernr. 1: 104, 2005.

-
74. **Rosenthal** MA, Kavar B, Hill JS, Morgan DJ, Nation RL, Stylli SS, Bassar RL, Uren S, Geldard H, Green MD, Kahl SB, Kaye AH.
Phase I and pharmacokinetic study of photodynamic therapy for high grade gliomas using a novel Boronated Porphyrin.
J Clin Oncol 19: 518-524, 2001.
75. **O` Hara** J, Douple EB, Abrams MJ, Picker DJ, Giandomenico M, Vollano J. Potentiation of radiation induced cell kill by synthetic metalloporphyrins.
Int J Rad Oncol Biol Phys 16 :1049-1052,1993.
76. **Brown** JM.
SR-4233 (tirpazamin). A new anticancer drug exploiting hypoxia in solid tumors.
Br J Cancer 67:1163-1170, 1993.
77. **Koch** CJ.
Unusual oxygen concentration dependence of toxicity of SR-4233, a hypoxic cell toxin.
Cancer Res 53: 3992-3997, 1993.
78. **Teicher** BA, Ara G, Chen YN, Emi Y, Kakeji Y, Ikebe M, Maehara Y.
PEG hemoglobin: Effects on tumor oxygenation and radiosensitization .
Radiat Oncol Invest 4: 200-210, 1996.
79. **Jori** G.
Tumour photosensitizers: approaches to enhance the efficiency and selectivity of photodynamic therapy.
J Photochem Photobiol B: Biol 36: 87-93,1996.

-
80. **Reddi E**, Valduga G, Jori G, Bomer J, Latterini L, Mazzucato M.
Photophysical and photobiological properties of meso-substituted cationic porphyrins.
J Photochem Photobiol75: 462-470, 2002.
81. **Shikowitz MJ**, Abramson AL, Freeman K, Steinberg BM, Nouri M.
Efficacy of DHE Photodynamic Therapy for Respiratory Papillomatosis: Immediate and Long
-Term Results.
The Laryngoscope 108: 962-967,1998.
82. **Brihand Y**.
Contrast agents in magnetic resonance. From gadolinium complexes to superparamagnetic
spinels.
Rev Prat 42:857-861, 1992.
83. **Wendland MF**, Krombach GA Higgins CB, Novikov V, Saeed M.
Contrast enhanced MRI of stunned myocardium using Mn based MRI contrast media.
Acad Radiol Suppl 2: 341-342,2002.
84. **Nakajima S**, Fujii T, Murakami N, Aburano T, Sakata I, Nakae Y, Takemura T. Therapeutic
and imaging capacity of tumor-localizing radiosensitive Mn-porphyrin KADT-F10 for SCCVII
tumor in C3H/He mice.
Cancer Lett 18182 :173-178,2002.
85. **Nelson JA**, Schmiedl U, Shankland EG.
Metalloporphyrins as tumor- seeking MRI contrast media and as a potential selective treatment .
Invest Radiol 25 Suppl 1: 71-73, 1990.
86. **Ni Y**, Petre C, Miao Y, Yu I., Cresens E, Adriaens P, Bosmans H, Semmler W, Baert AL,
Marchal G.

Magnetic resonance imaging - histomorphologic correlation studies on paramagnetic metalloporphyrins in rat models of necrosis.

Invest Radiol 32 :770-779, 1997.

87. **Takehara Y**, Sakahara H, Masunnaga H, Isogai S, Kodaira N, Takeda H, Saga T, Nakajima S, Sakata I.

Tumour enhancement with newly developed Mn –metalloporphyrin (HOP-9P) in magnetic resonance imaging of mice.

Br J Cancer 84 :1681-1685,2001.

88. **Bohdiewicz PJ**, Lavalee DK, Fawwaz RA, Newhouse JH, Oluwole SF, Alderson PO.

Mn (III) hematoporphyrin. A potential MR contrast agent.

Invest Radiol 25: 765-770, 1990.

89. **Mody TD**.

Pharmaceutical development and medical applicattions of porphyrin-type macrocycles.

J Photofrin Photodynamic 4:362-367, 2000.

7. Lebenslauf

| | |
|----------------------------|--|
| Name | Schaffer |
| Vorname | Moshe |
| Geboren | 19. September 1955 |
| Geburtsort | Kfar Saba, Israel |
| Familienstand | verheiratet seit 1981 mit Frau Dr. Pamela Manuela Schaffer, geb. Straus |
| Sohn | Daniel, geb.: 4. September 1986 |
| Staatsangehörigkeit | Deutsch (seit Mai 1992) |
| Schulbildung: | |
| 1961-1969 | Grundschule "Brenner" in Kfar Saba |
| 1969-1973 | Gymnasium "B. Katzenelson", wissenschaftlich-biologischer Zweig, in Kfar Saba und Abitur |
| Wehrdienst: | |
| 1973-1977 | Pflichtwehrdienst (Oberleutnant) im Heer des Staates Israel |
| Berufliche | |
| Ausbildung: | |
| 1977-1978 | Biologie, Hebräische Universität Jerusalem, Israel |
| 1978-1979 | Studium der italienischen Sprache |
| 1979-1988 | Medizin, Universität Padua, Italien |
| | Titel der Doktorarbeit (Promotion): "Terapia Chirurgica della Malattia da Reflusso-Gastroesofageo. Razionale e Risultati a Distanza dell'Intervento di Funduplicatio". |
| | Doktorvater: Professor Dr. Alberto Peracchia, |

-
- Leiter der 1. Chirurgischen Klinik der Universität Padua, ordentlicher
Professor für klinische Chirurgie an der Universität Padua, Italien
- 12.88 Italienisches Staatsexamen
- Erlaubnis zur Ausübung des ärztlichen Berufes in
Italien und EU-Staaten
- 01.89 bis 04.89 Studium der deutschen Sprache am Goethe-Institut, München
- 05.89 bis 12.90 Freiwillige Mitarbeit an der 1. Chirurgischen Universitätsklinik, Padua,
Italien
- 03.90 bis 09.91 Assistenzarzt
Klinik für Strahlentherapie und Radioonkologie der Universitätsklinik
Göttingen, Chefarzt Professor Dr. med. E. Dühmke
- 09.91 bis 09.92 Assistenzarzt
Abteilung Strahlentherapie der Universitätsklinik Padua, Italien, Chefarzt
Professor Dr. F. Calzavara
Ärzteausch zwischen Padua und Göttingen, zum Erwerb neuer
Therapiemethoden
- 09.92 bis 09.93 Assistenzarzt
Klinik für Strahlentherapie und Radioonkologie der Universitätsklinik
Göttingen, Chefarzt Professor Dr. med. E. Dühmke
- Seit 10.93 Wissenschaftlicher Assistent
Klinik für Strahlentherapie und Radioonkologie, Chefarzt Professor Dr.
med. E. Dühmke, Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität, München
- Seit 07.1996 Facharzt für Strahlentherapie und Radioonkologie

- Seit 01.2001 Oberarzt, später Leitender Oberarzt und ständiger Stellvertreter des
 Ärztlichen Direktors
 Klinik für Strahlentherapie und Radioonkologie, Ärztlicher Direktor
 Professor Dr. med. E. Dühmke, Klinikum der Ludwig-Maximilians-
 Universität, München
- 28.4.2004 Habilitation
 Thema: Porphyrine als strahlensensibilisierende Substanzen- grundlegende
 Untersuchungen an soliden Tumoren - vom in vitro Experiment zur
 klinischen Anwendung
 Fachgebiet: Strahlentherapie
 Medizinische Fakultät LMU, München

Wissenschaftliche Tätigkeit

- 1991-1992 Abteilung Strahlentherapie der Universitätsklinik Padua,
 Italien, Chefarzt Professor Dr. F. Calzavara,
 Photodynamisches Therapie Labor und klinische
 Applikationen
- 1996-1999 Laser-Forschungslabor: Anwendung von nicht ionisierenden
 Strahlen in der Tumorbehandlung
- Seit 1999 Biologisches Labor, Universität Padova, Italien
 Wissenschaftliche Untersuchungen mit Radiosensitizern
- 2000 Sloan Kettering Cancer Center New-York (Dept. of Radiation
 Therapy), Aufenthalt zum Erwerb von neuen
 Therapiemethoden: IMRT Bestrahlung und Prostata-

| | |
|------------------------------------|--|
| | Brachytherapie |
| 2.2000-3.2000 und 5.2002-6.2002 | Gast-Professur am Rambam Medical Center, Onkologische Abteilung, Technion Medical School, Haifa, Israel |
| 2.2003 und 12.2003 1.2005 | |
| Seit 2002 | Studienleiter einer monozentrischen Phase I Studie: Porphyrin (Photofrin) als selektiver Radiosensitizer zur Behandlung von Patienten mit fortgeschrittenen soliden Tumoren unter Verwendung von locker ionisierender Strahlung |

Mitgliedschaften

Deutsche Gesellschaft für Strahlentherapie und
Radioonkologie (DEGRO)
European Society of Radiation Oncology
Deutsche Gesellschaft für Lasermedizin e.V.
European Organisation for Research and Treatment
of Cancer (EORTC)

Preise, Stipendien

1. Mittelvergabe der Firma Axcan Pharma: Photofrin
als Radiosensitizer , 150,000 US \$ (2003-2004)
2. Mittelvergabe der Firma Axcan Pharma: Photofrin
als Radiosensitizer , 150,000 US \$ (ab 2005)*

Varian Poster Preis

Bestrahlung von HNO Rezidiven ohne und mit
Amifostin. Deutscher Kongress für Radioonkologie,
Strahlenbiologie und Medizinische Physik, Karlsruhe,
6–9.11.1999. (Koautor)

8. Danksagung

Während meiner Forschungstätigkeit erfuhr ich von zahlreichen Personen Unterstützungen verschiedener Art.

Stellvertretend für viele, die beitrugen, dass diese Doktorarbeit verfasst werden konnte, möchte ich mich bei einigen Personen ganz besonders bedanken.

Mein besonderer Dank gilt meinem akademischen Lehrer, Herrn Professor Dr. med. Eckhardt Dühmke. Er ermöglichte die Durchführung meiner klinischen Ausbildung in allen Strahlentherapie Spezialgebieten. Er förderte mein wissenschaftliches Forschungsinteresse in der Radio-Biologie. Die schnelle Umsetzung der Konzeption war größtenteils nur durch die von ihm geschaffene ideale Symbiose zwischen Forschungseinrichtung und Klinik möglich.

Die Mitarbeiterin von unserem Radiobiologischem Labor, Frau Dr. Ulrike Kulka, bildete in diesem Forschungskonzept den Grundstein für die fruchtbare Arbeit. Ohne ihr freundschaftliche und die Grenzen der beruflichen Verpflichtung weit überschreitendes Engagement wäre die Durchführung des Gesamtprojektes in diesem Rahmen nicht möglich gewesen.

Neben der hervorragenden gemeinsamen Aktivität mit dem Radiobiologischen Labor, besteht seit vielen Jahren eine fruchtbare Kooperation auf dem Gebiet der Anwendung von Porphyrinen in der Medizin mit der Abteilung für Strahlentherapie, Universität Padova, Italien, mit der Bar-Ilan Universität, Ramat Gan, Israel und mit der Onkologischen Klinik, Rambam Medical Center/Technion Medical School, Haifa, Israel. Diese hervorragende, freundschaftliche Zusammenarbeit wurde insbesondere durch den LTD. Oberarzt Professor Luigi Corti (Padova

Universität), Professor Zvi Malik (Bar-Ilan Universität) und Chefarzt Professor Abraham Kuten (Rambam Medical Center) gefördert.

Ich möchte mich auch persönlich bei Frau PD Dr. med. Birgit Ertl - Wagner aus dem Institut für Klinische Radiologie der LMU für Ihre Hilfe, Kommentare und Anregungen bedanken.

Abschließend möchte ich mich bei meiner Frau Pamela und meinem Sohn Daniel für ihre Geduld und Unterstützung bedanken. Ohne ihren Beitrag wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Dies gilt insbesondere für meine Frau, da sie mir nicht nur familiären Rückhalt gegeben hat, sondern mich auch in ihrer Qualität als Oberärztin in unserer Klinik für Strahlentherapie der LMU, fachlich unterstützt hat. Ihre fachlichen und sprachlichen Korrekturen sowie die moralische Unterstützung waren von unschätzbarem Wert.