



KERNFORSCHUNGSANLAGE JÜLICH GmbH

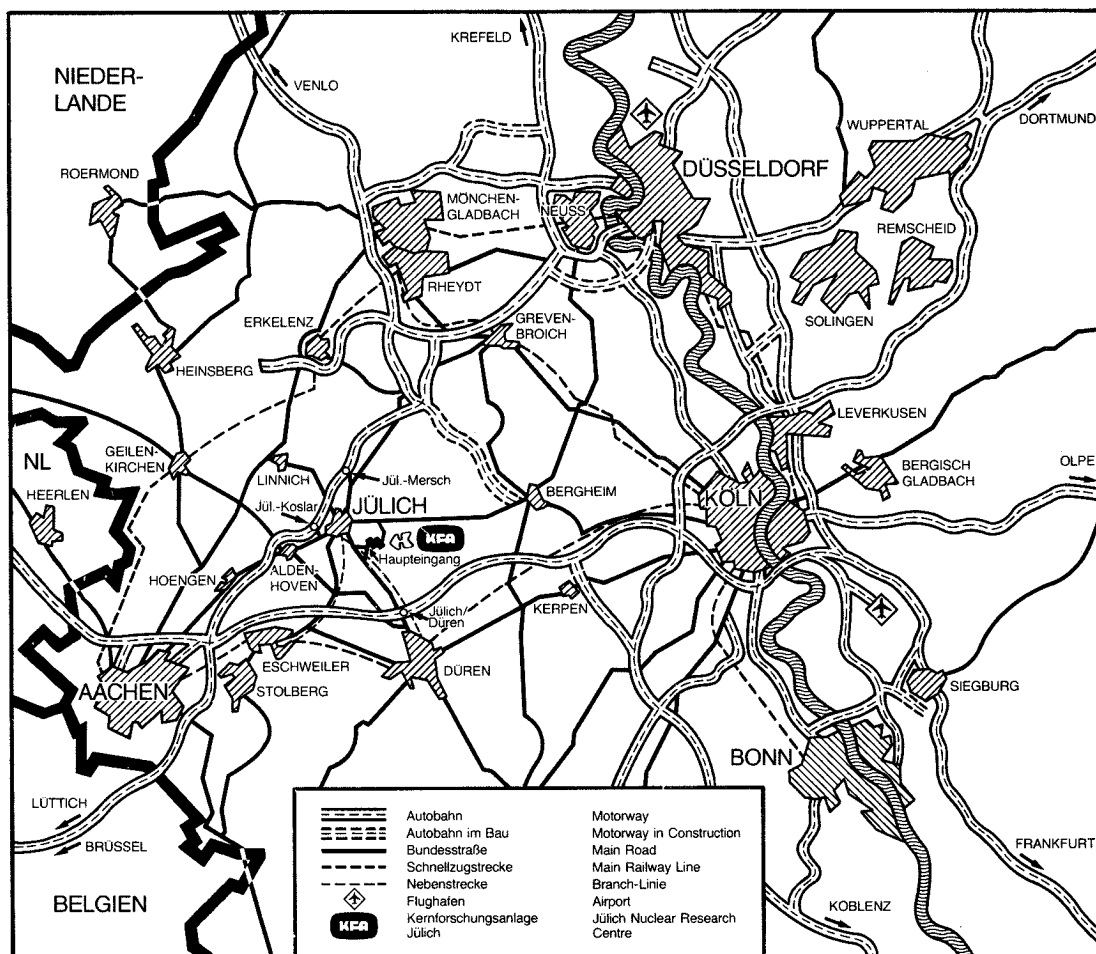
Institut für Medizin

**Untersuchungen zur Beeinflussung des Wachstums
eines Experimentaltumors der Maus (Sarkom 180)
durch Langzeitinfusion von 125 Joddesoxyuridin**

von

Frank Wirtz

**Jül-2133
Mai 1987
ISSN 0366-0885**



Als Manuskript gedruckt

Berichte der Kernforschungsanlage Jülich – Nr. 2133
 Institut für Medizin Jül-2133

Zu beziehen durch: ZENTRALBIBLIOTHEK der Kernforschungsanlage Jülich GmbH
 Postfach 19 13 · D-5170 Jülich (Bundesrepublik Deutschland)
 Telefon: 02461/610 · Telex: 833556-0 kf d

**Untersuchungen zur Beeinflussung des Wachstums
eines Experimentaltumors der Maus (Sarkom 180)
durch Langzeitinfusion von ^{125}J oddesoxyuridin**

von

Frank Wirtz

D 10 (Diss. Uni. Düsseldorf)

Abstract:

Various in the past tumor cells were labeled in vivo with ^{125}I -iododeoxyuridine ($^{125}\text{IUdR}$) for studies of cell proliferation. IUdR is a thymidine analogue and thus may be incorporated in DNA during synthesis. Following ^{125}I -decay by electron capture low energy Auger- and conversion electrons, about 20 on the average, are emitted and cause considerable biological damage when released close to or in DNA. Furthermore, there is reason to assume that the chemical transformation from I to Te and Coulomb repulsion of the residual positive charges of the daughter nucleus ^{125}Te add considerably to the effects caused by the electrons, X-rays and γ -rays.

The present experiments were designed to test the therapeutic qualification of ^{125}I incorporated in DNA of tumor cells. The tumor-host system used was the solid mouse tumor sarcoma-180 growing on female albino mice (NMRI). A device was built which makes it possible to intravenously infuse tumor bearing mice with solutions of $^{125}\text{IUdR}$ for several weeks. Three or, respectively, 5 days before the onset of the infusions the mice were inoculated into the right hind leg with 3×10^5 tumor cells in 0.1 ml physiological salt solution. The total activity administered per mouse was 100 μCi infused during a period of 10 days. After termination of the infusions tumor sizes and retained radioactivities were measured every 5 days until death of the animals occurred.

Measurements of tumor volumes with a calliper in two plains and of retained radioactivities - in a NaI(Tl)-whole body counter for small animals - served for indicators for the effectiveness of the infusions. In comparison with tumors of control animals tumors of mice infused with $^{125}\text{IUdR}$ showed a mean retardation in growth of about 27% of the volumes of control tumors during the total period of post-infusion observation (25 days). Extension of life expectancy and an increase of the rate of final tumor regression did not occur. Likewise, no significant differences were observed between tumors which were 3 or 5 days old on the first day of infusion.

After termination of the infusions the residual whole-body radioactivity per mouse was about 1 % of the total activity infused per animal. This was in good agreement with calculations considering rates of incorporation and excretion and confirmed earlier assumptions that only about 5% of the administered IUdR is incorporated initially. The number further confirmed that, during the first 10 days after incorporation, the daily loss of activity - due to cell death - is about 30%. Control animals without tumors showed a faster decrease of incorporated activity or, respectively, loss of cells than tumor bearing mice. This difference could in part be explained by an exhaustion of the short-lived cell populations of the reticulo-endothelial system of tumor bearing animals.

The results of the experiments indicate beneficial therapeutic effects of $^{125}\text{IUdR}$ incorporated in tumor cell DNA. It is suggested to expand the applied technique - specifically with respect to variations of the parameters of the experimental procedures - in order to further increase its effectiveness regarding the impairment of tumor growth.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
<u>I EINLEITUNG</u>	1
<u>II ALLGEMEINE EINFÜHRUNG</u>	
1. Problemstellung	2
2. Strahlenbiologische Grundlagen	3
2.1 Tumorzellkinetik	3
2.2. Strahlensensibilität	5
2.3. Auger-Effekt von ^{125}Jod	7
2.4. Zelltod - Zellschädigung - Reparatur- mechanismen	9
<u>III MATERIAL UND METHODEN</u>	12
1. Versuchstiere	12
2. Sarkom 180	12
3. Transplantationstechnik	14
4. $^{125}\text{Joddesoxyuridin}$ (JUdR)	15
5. Langzeitinfusion	17
5.1. Katheterherstellung	18
5.2. Beschreibung der Infusionsapparatur	19
5.3. Infusionsdurchführung	22
5.3.1. Vorbereitung der Versuche	22
5.3.2. Durchführung der Versuche	26
6. Meßtechnik	27
6.1. Tumolvolumenbestimmung	27
6.2. Ganzkörperaktivitätsmessung	28
6.3. Körpergewicht und Tumoraktivität	30
<u>IV VERSUCHSERGEBNISSE</u>	31
1. Elektronische Datenverarbeitung	31
2. Tumorwachstumskurven	31
3. Tumorregression	35
4. Ganzkörperaktivitätsabfall	36
5. Tumoraktivität	36
6. Körpergewichte	37

	Seite
<u>V DISKUSSION</u>	42
<u>VI ZUSAMMENFASSUNG</u>	48
<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	50
<u>LEBENSLAUF</u>	63

I EINLEITUNG

In den letzten Jahren gewann die Strahlentherapie bei der Bekämpfung maligner Tumorleiden neben der operativen und chemotherapeutischen Behandlung immer mehr an Bedeutung. Der Grund dafür ist nicht zuletzt darin zu sehen, daß die Möglichkeiten einer gezielten Anwendung von ionisierenden Strahlen in der Entwicklungsgeschichte der Medizin noch relativ jung sind und zusehends subtiler werden. Ist bei der klassischen Strahlentherapie die Strahlenquelle in der Regel außerhalb des erkrankten Organismus, so besteht daneben auch die Möglichkeit, die Strahlenquelle intrakorporal, in der letzten Zeit sogar intrazellulär und möglichst selektiv am Ort des Bedarfs zu plazieren. Auf dem Sektor der Tumordiagnostik sind in dieser Hinsicht schon wertvolle Techniken entwickelt worden, die heute zum Standardprogramm moderner Krankenhäuser zählen, wie etwa die nuklearmedizinische Untersuchung der Schilddrüse, bei der Primärtumorsuche sowie beim Metastasennachweis.

All diesen in-vivo-Untersuchungen liegt zu Grunde, daß durch Auswahl eines geeigneten Trägers eine Anreicherung von radioaktiven Nukliden in bestimmten Körpergeweben erreicht wird, die dann mittels Registriergeräten aufgezeichnet und sichtbar gemacht werden kann. Mit der Grundlagenforschung auf diesem Gebiet befaßt sich das Laboratorium Strahlenbiologie für inkorporierte Nuklide des Instituts für Medizin der KFA Jülich unter der Leitung von Prof. Dr. med. L.E. Feinendegen.

II ALLGEMEINE EINFÜHRUNG

1. Problemstellung

Bei Pilotexperimenten von Kronenberger und Tisljar (91) mit Injektionen von radioaktiv markierten DNA-Vorläufern wie ^{125}J -Joddesoxyuridin ($^{125}\text{JUdR}$) zeigten sich Hinweise auf eine wachstumshemmende Beeinflussung eines soliden Experimentaltumors bei Mäusen durch radioaktiven Zerfall. Ziel dieser Arbeit war es nun, mit Hilfe einer verbesserten Methode die Wirkung der radioaktiven Nuklide auf den Tumor zu erforschen, wenn die wirksame Substanz nicht einmalig als Pulsinjektion verabreicht wird, sondern wenn sie als Langzeitinfusion über einen bestimmten Zeitraum dem Organismus permanent angeboten wird. Der Grundgedanke bei dieser Methode entstammt der Zellmarkierungstechnik, wie sie in unterschiedlichster Form im hiesigen Institut bei Untersuchungen zur Tumorzellkinetik und Strahlensensibilität erprobt worden ist.

Der Einbau von $^{125}\text{JUdR}$ in die Tumor-DNA kann nur in der Synthesephase stattfinden. Da in einem Tumor die Zellen in unterschiedlichsten Phasen des Teilungszyklus vorliegen und sie zudem in den verschiedenen Phasen eine unterschiedliche Strahlenempfindlichkeit und Stoffwechselaktivität aufweisen, wird ein ständiges Angebot von Substrat mehr Tumorzellen in der gewünschten Phase antreffen und somit eine hohe Anreicherung von JUdR im Tumor gewährleisten. Jedoch sei hier schon darauf hingewiesen, daß auch andere Zellen des Organismus, insbesondere schnell proliferierende Gewebe wie Knochenmark und Dünndarm, eine hohe Einbaurate aufweisen (2, 48).

Zur langzeitigen Markierung bzw. Bestrahlung des Tumors mit inkorporiertem $^{125}\text{JUdR}$ wurde eine Infusionsapparatur entwickelt, die es ermöglicht, gleichzeitig 30 Mäusen über einen in einer der Schwanzvenen liegenden Katheter 10 bis 14 Tage lang eine Lösung zu infundieren. Dabei mußte gewährleistet sein, daß das Versuchstier durch die Infusion möglichst wenig in seiner normalen Lebensweise gestört bzw. gestreßt wurde.

2. Strahlenbiologische Grundlagen

2.1. Tumorzellkinetik

Das Wachstum eines malignen Tumors ist geprägt durch seine Proliferationsrate, die sich an keine biologisch morphologischen Grenzen hält und dem Regelkreis des Organismus entkoppelt ist. Eine Tumorzelle teilt sich innerhalb einer bestimmten Zykluszeit in zwei Tochterzellen. Zwischen zwei Mitosen unterscheidet man bestimmte Zellzyklusphasen unterschiedlicher Strahlensensibilität. Mit der Trennung zweier Tochterzellen (M-Phase) beginnt die postmitotische G_1 -Phase, in der stoffwechselaktive Metaboliten für den zelleigenen Bedarf gebildet werden. In der sich anschließenden S-Phase findet die Synthese der neuen DNA durch identische Reduplikation statt, so daß sich am Ende der S-Phase der DNA-Gehalt verdoppelt hat. Hierauf folgt die G_2 -Phase, in der sich die Zellen für die nächste Teilung präparieren. Die Trennung in die zwei Tochterzellen geschieht dann wieder in der M-Phase.

Das Wachstum eines Tumors wird aber nicht nur durch die Zellvermehrung bestimmt, sondern auch durch die gleichzeitig auftretenden Zellverluste. Ursachen für den Zelltod sind in erster Linie die ab einer gewissen Tumorgroße auftretenden Nutritionsstörungen. Da die Kapillareinsprossung mit der

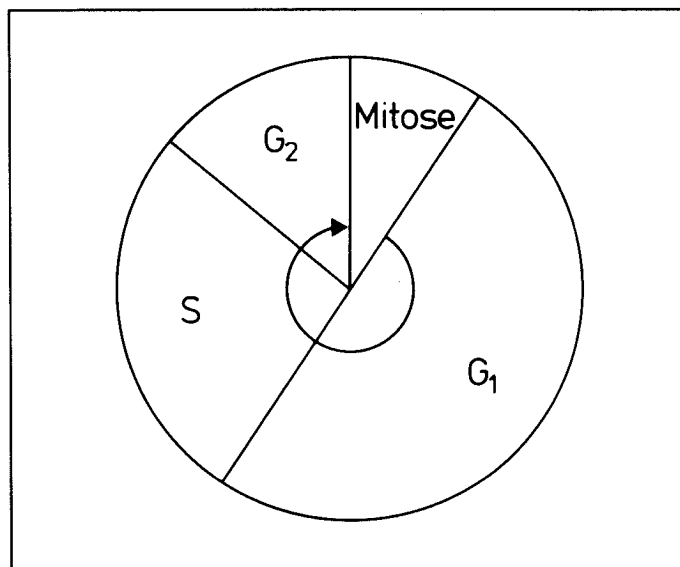


Abb. 1: Phasen eines Zellzyklus

Zellteilungsrate nicht parallel läuft, werden die Tumorzellen in einer bestimmten Entfernung von den ernährenden Blutgefäßen nicht mehr versorgt und gehen zugrunde (88, 86). Andere Ursachen sind die körpereigene Immunabwehr des Organismus sowie zytotoxische Wirkungsmechanismen bereits abgestorbener Zellen. Ein weiterer Parameter, der das Tumorstadium charakterisiert, läßt sich aus der Tatsache ableiten, daß in einem Tumor nicht alle Zellen im gleichen Zyklusstadium vorliegen und es immer eine Fraktion gibt, die in einer Art Ruhephase G_0 an der Vermehrung nicht teilnimmt.

Aus der Betrachtung dieser beiden konkurrierenden Systeme von Zellproduktion und Zellverlust ist die Wachstumskurve eines Tumors zu verstehen. Nach anfänglich steilem exponentiellem Anstieg folgt eine Phase deutlich verringerter Wachstumsgeschwindigkeit, die zum Schluß zu einer quasi-asymptotischen Annäherung an ein konstantes Tumorstadium (Plateau) führt.

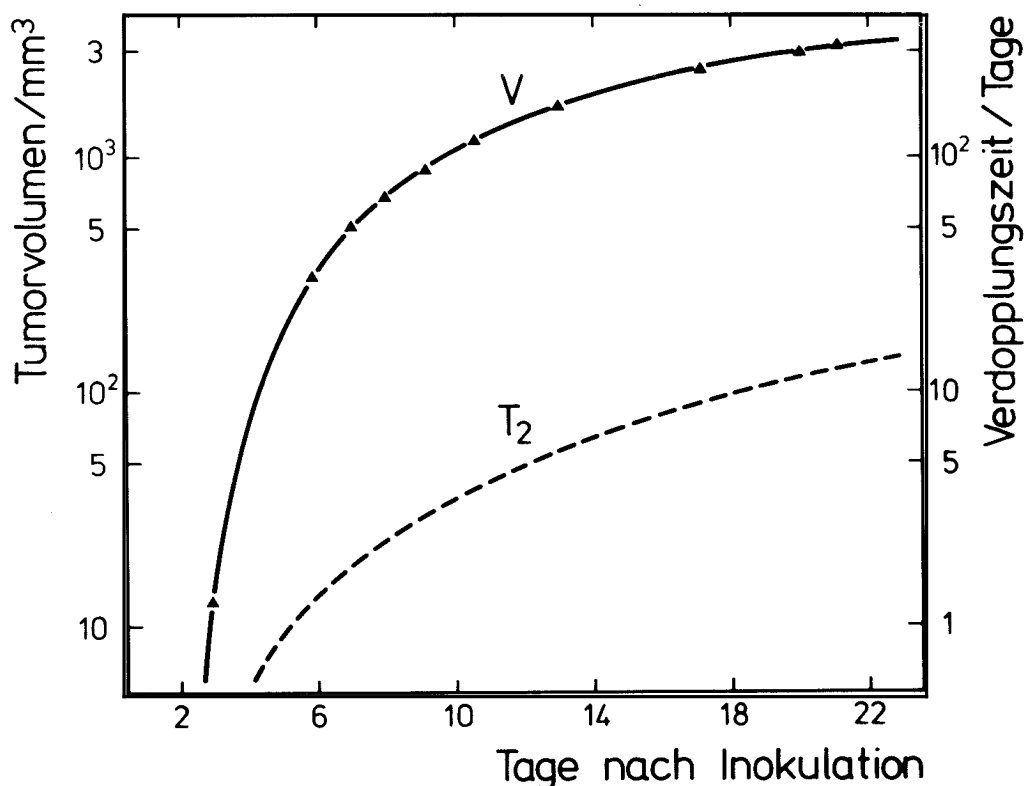


Abb. 2: Tumorstadiumskurve Sarkom 180 (73)

Da die Zykluszeit in einem bestimmten Zellsystem relativ konstant ist (beim Sarkom 180, 16 ± 2 h (45)) und sich auch die Zellverlustrate ebenfalls relativ unabhängig vom Tumoralter zeigte, ist die verminderte Wachstumsgeschwindigkeit durch die Abnahme der Wachstumsfraktion gekennzeichnet, d.h. des Anteils an Tumorzellen, die noch proliferieren (45, 73, 85).

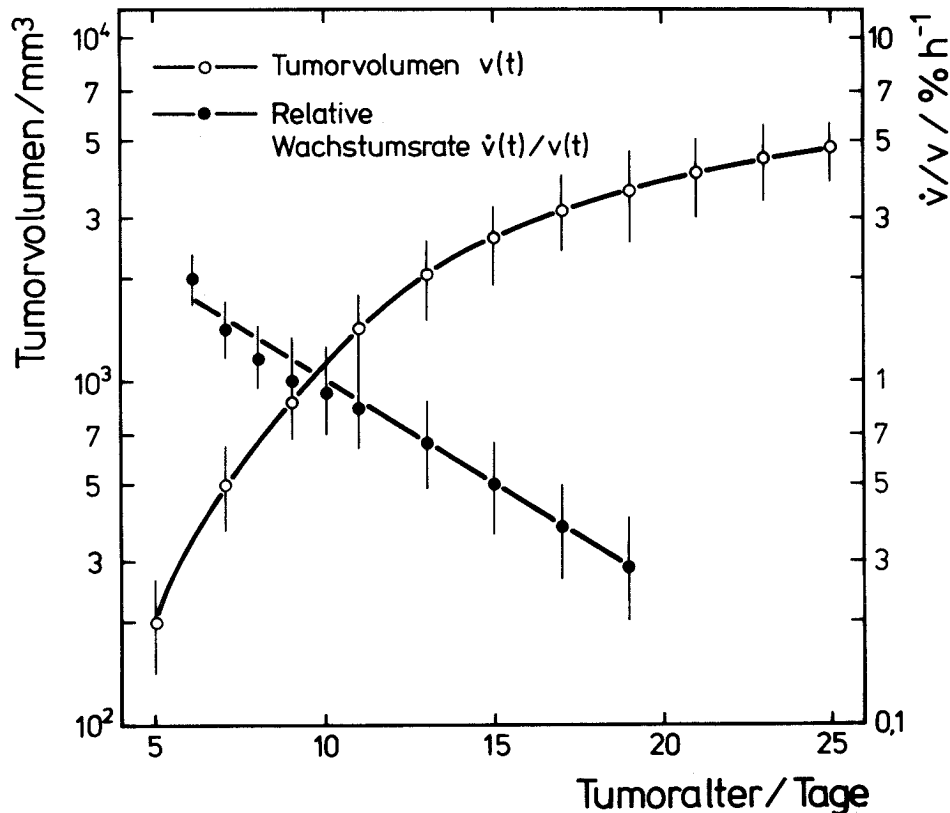


Abb. 3: Tumolvolumen und relative Wachstumsgeschwindigkeit in Abhängigkeit vom Tumoralter beim Sarkom 180 (45).

2.2. Strahlensensibilität

Beim Durchlaufen der einzelnen Phasen des Generationszyklus ändert sich die Strahlenempfindlichkeit der Zelle (2, 4, 13, 18, 22, 34, 44, 66, 79). Untersuchungen mit zum Teil unterschiedlichen Ergebnissen haben gezeigt, daß allgemein die kurze mitotische Teilungsphase und die S-Phase bzw. der Übergang G_1/S am anfälligsten hinsichtlich Strahlenschädigungen sind (4, 13, 34, 79, 95). Zudem ist schon länger bewiesen, daß hypoxische Zellen, d.h. Zellen, die durch ihre Entfer-

nung zu den nutritiven Gefäßen minderversorgt sind, im Gegensatz zu euoxischen Zellen durch Bestrahlung nicht so stark geschädigt werden (86, 88). Bei diesem als Sauerstoffeffekt bezeichneten Phänomen bewirkt der Sauerstoff in der Zelle eine "Strahlensensibilisierung" bzw. Wirkungsverstärkung durch Radikale, welche in Anwesenheit von Sauerstoff durch ionisierende Strahlen erzeugt werden. Diese Radikale verursachen einerseits (indirekte) Strahlenschäden und wirken sich andererseits hemmend auf Reparaturprozesse aus. Hypoxische Zellen werden daher weniger geschädigt, Restitutionsvorgänge laufen vergleichsweise ungestört ab, und es kann daher zu einer weitgehenden Erholung subletal bestrahlter Tumorzellen kommen. Hieraus ergibt sich die Problematik, daß bei der Bestrahlung bestimmter Zellpopulationen diejenigen Zellen, die im hypoxischen Milieu oder in einer strahlenunempfindlichen Phase vorliegen, unter Umständen nur subletal geschädigt werden und anschließend ihre Proliferation in stärkerem Grade wieder aufnehmen als euoxische Zellen (7, 18, 24, 48, 65).

Ihren Ausdruck findet die strahlenmodifizierende Wirkung des Sauerstoffs im Sauerstofffaktor (SF), der definiert ist als

$$SF = \frac{D \text{ (anoxische Zellen)}}{D \text{ (euoxische Zellen)}}$$

wobei D = Dosis gleicher Strahlung zur
Erzielung eines bestimmten
Effektes

Bei einer Reihe von Experimenten an unterschiedlichen Zellsystemen wurden für Gamma- und Röntgenstrahlen SF-Werte von ungefähr 3,0 ermittelt. Der Sauerstoffeffekt ist abhängig von der linearen Energieübertragung der Strahlung ("linear energy transfer", kurz LET genannt); d.h. Strahlung mit hoher Energieabgabe pro Weglängeneinheit hat eine hohe schädigende Wirkung, die weitgehend unabhängig von der vorhandenen Sauerstoffkonzentration ist.

2.3. Auger-Effekt von ^{125}Jod

Der Auger-Effekt ist die Emission von Hüllenelektronen, bedingt durch die Auffüllung einer Leerstelle in der Elektroschale eines Atoms. Meist entsteht in einer der inneren Elektronenschalen z.B. durch Gammastrahlung oder bei Atomen, die durch sog. "K-Einfang" zerfallen, eine oder mehrere Leerstellen. Diese Leerstellen können durch Elektronen höherer Schalen aufgefüllt werden, wobei aufgrund der Energiebilanz weitere Elektronen aus den äußeren Schalen emittiert werden können. Diese Elektronen besitzen niedrige Energien mit entsprechend geringen Reichweiten. Aus diesem Grund entsteht im wässrigen Milieu in unmittelbarer Nähe des zerfallenden Atoms eine Zone extrem hoher Ionisationsdichte (25, 29, 31, 46, 76, 97). In vergleichenden Studien (Tabelle I) über die Zytotoxizität von in die DNA von Kulturzellen eingebauten Radionuklid- ^{125}Jod gelang der Nachweis, daß das Isotop ^{125}Jod gegenüber einer gleichen Anzahl von Tritiumzerfällen bezüglich der Überlebenskurven von Säugetierzellen bis zu 25-mal toxischer ist (10, 27, 31, 46, 78, 92, 93).

Tabelle I

Toxizität von ^{125}J in Säugetierzellen im Vergleich mit ^3H			Faktor für	
			Zerfälle	abs. Dosis
H.H. Ertl und L.E. Feinendegen	(27)	Zellverlust in Mäusen	10-20	
L.E. Feinendegen et al.	(31)	proliferierende Zellen in vivo	> 10	5
		Knochenmarkzellen	> 20	
R. Roots et al.	(78)	D ₀ für L5178Y	20	7
H.J. Burki et al.	(10)	D ₀ für V79-S171	25	9
		D ₀ für L5178Y	7	2,4
K.G. Hofer und W.L. Hughes	(46)	D ₀ für L1210	16	4-5
G. Tislijar-Lentulis et al.	(92,93)	D ₀ für T1-Zellen	26	11

Wenngleich die Auger-Elektronen ein relativ hohes lineares Energieübertragungsvermögen (LET) und große "relative biologische Wirksamkeit" besitzen, so ist doch die Radiotoxizität höher als auf der Basis des LET und der absorbierten Dosis vorausgesagt werden kann. Eine mögliche Ursache hierfür kann in sog. "Molekülexplosionen" gesehen werden, die in Verbindung mit dem Auger-Effekt infolge der multiplen positiven Restladungen (Coulombabstoßung) des Zerfallproduktes ^{125}Te beim ^{125}J -Zerfall auftreten mögen. Die durch ionisierende Strahlung hervorgerufenen biologischen Effekte beruhen auf Anregungs- und Ionisationsprozessen der absorbierenden Materie. Dies gilt gleichermaßen für die Emissionen inkorporierter Radionuklide. Dazu kommen vielfach als Folge der Emissionen Anregungs- und Ionisationszustände des emittierenden Atoms. Ferner spielt bei manchen inkorporierten Nukliden und bestimmten biologischen Endpunkten der Transmutationseffekt eine wesentliche Rolle. Dieser Begriff beinhaltet folgende Komponenten:

- 1.) Umwandlung des zerfallenden Nuklids in das Tochternuklid (Änderung der chemischen Situation)
- 2.) Kernrückstoßeffekte
- 3.) Neuverteilung und elektrostatische Abstoßung der nach der Emission geladener Teilchen zurückbleibenden, nicht mehr kompensierten Ladungen. Dies kann am Ort des Nuklidzerfalls zu einer völligen Desintegration des Molekülverbandes führen ("Molekülexplosion").

Es besteht Grund zur Annahme, daß Punkt 3.) beim Zerfall von ^{125}J , der über Elektroneneinfang (EC) erfolgt, eine besondere Rolle spielt. EC führt zu Leerstellenkaskaden in der Elektronenhülle des Tochternuklids ^{125}Te (Auger-Effekt) und zu multipler Emission von Auger- und Konversionselektronen. Es werden im Mittel 21 Elektronen mit einer mittleren Gesamtenergie von 19,8 KeV emittiert (12).

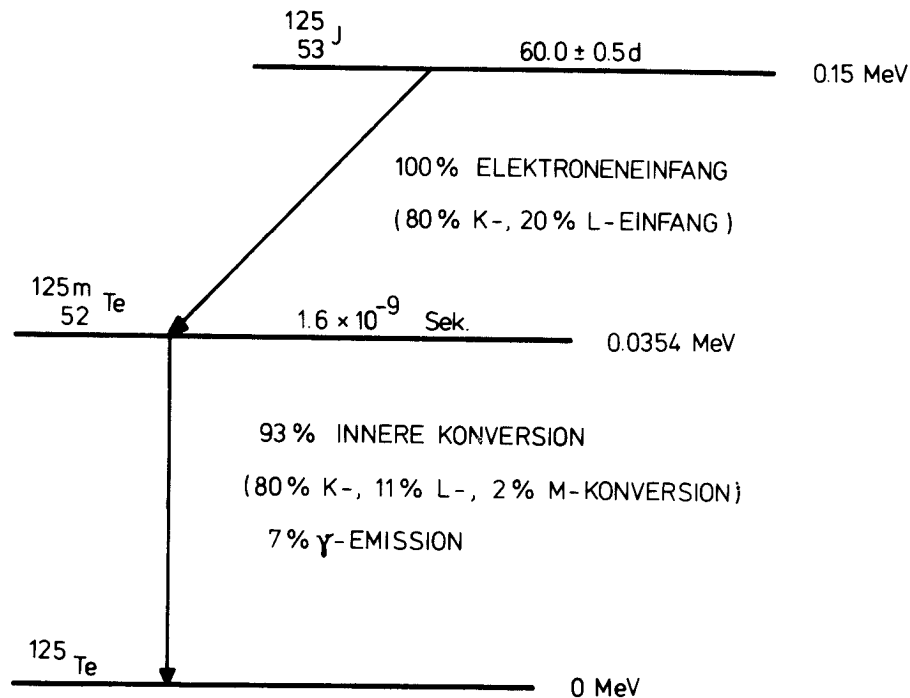


Abb. 4: Zerfallsschema von ^{125}Jod

Sowohl durch diese intensive Emission meist niederenergetischer Elektronen als auch durch die ^{125}J -Transmutation entstehen erhebliche biologische Schäden. Es ist zur Zeit noch nicht geklärt, in welchem Maße diese auf die eine oder andere Komponente zurückzuführen sind. Es gibt jedoch Anzeichen dafür, daß je nach betrachtetem biologischem System und Versuchsbedingungen dem Transmutationseffekt größere Bedeutung beigemessen werden muß (63, 64, 91).

2.4 Zelltod - Zellschädigung - Reparaturmechanismen

Eine zentrale Rolle sowohl für das Leben wie auch für die Proliferation einer Zelle spielt die DNA als Träger der Informationen für alle Stoffwechselleistungen und für die Fähigkeit zur Zellteilung und -vermehrung.

Ionisierende Strahlung verursacht in biologischen Geweben Schäden durch unterschiedliche Pathomechanismen. Als Beispiel für die direkte Wirkung seien die durch Ionisation entstandenen Schäden an der Zellmembran oder an der DNA erwähnt (siehe Abb. 5), welche dann nicht mehr in der Lage sind, das "Milieu intern" aufrecht zu erhalten. Neben Veränderungen der morphologischen Gestaltung durch Molekülvernetzung und Modifikation an den Nukleinsäurebasen kommen an der DNA in erster Linie Einzelstrang- und Doppelstrangbrüche der Doppelhelix in Betracht. Zur indirekten Wirkung von Strahlung zählt im wesentlichen die schon erwähnte Bildung von Radikalen, die durch Radiolyse des Wassers entstehen und lebenswichtige Stoffwechselprozesse stören oder blockieren.

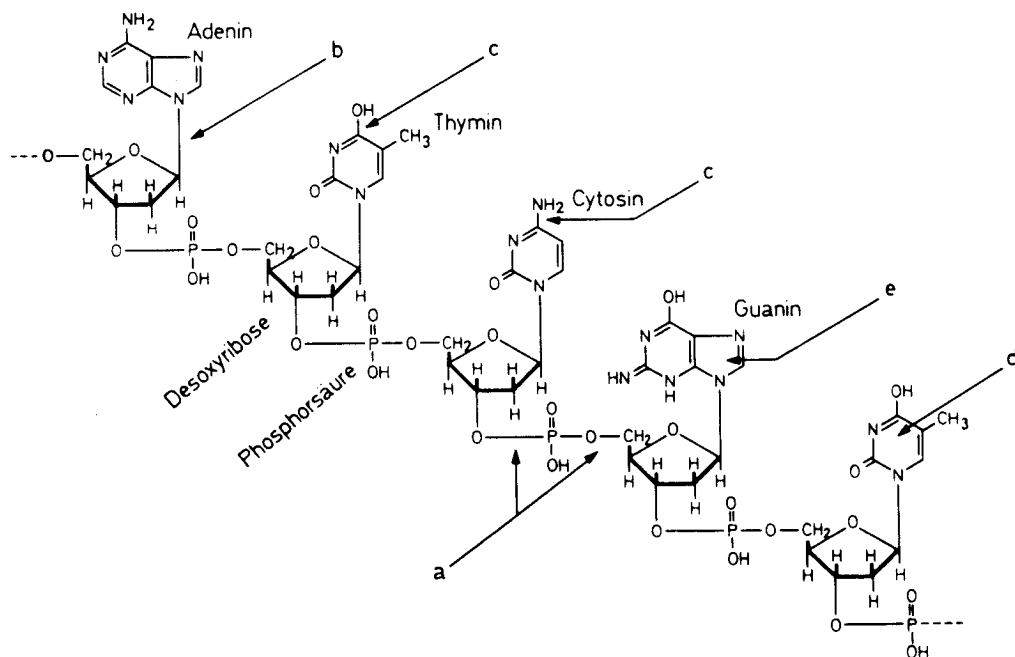


Abb. 5: Aufbau der DNA mit den empfindlichsten Angriffsstellen für ionisierende Strahlung; A : Adenin, C : Cytosin, D : Desoxyribose, G : Guanin, T : Thymin, a : Kettenbruch, b : Basenspaltung, c : Veränderung der Basenendgruppen, d: Spaltung des Sechseringes, e : Öffnung des Imidazolringes (48)

Wie gezeigt werden konnte, führt praktisch jeder Zerfall eines in die DNA eingebauten ^{125}J -Atoms zu 1 bis 5 Einzelstrangbrüchen und im Mittel zu einem Doppelstrangbruch, welcher oftmals den Zelltod bedeutet (50, 52, 94). Diese Schäden können hauptsächlich auf den Auger-Effekt bzw. auf die damit verbundenen Molekülexplosionen zurückgeführt werden. Die Zelle ist den Strahlenschäden jedoch nicht schutzlos ausgeliefert, sondern verfügt über Reparaturmechanismen, die manche DNA-Läsion kompensieren können (9, 15, 61). Da bei den jeweiligen Untersuchungen unterschiedliche Bedingungen zu Grunde gelegt waren, sind die Ergebnisse z.T. widersprüchlich. Speziell für die durch ^{125}J -Zerfall induzierten Doppelstrangbrüche konnte bisher keine Reparatur gefunden werden (94). Irreparable Strangbrüche sowie die Summe minimaler bzw. subletaler Läsionen können den Zelltod herbeiführen.

III MATERIAL UND METHODEN

1. Versuchstiere

Für die Experimente wurden weibliche Albinomäuse des Stammes NMRI verwendet, die von der Lippischen Versuchstieranstalt, Hagemann GmbH & Co., D-4923 Extertal, bezogen worden waren. Das Alter der Tiere betrug bei Versuchsbeginn 10 bis 12 Wochen, das durchschnittliche Körpergewicht 25 g. Gehalten wurden die Mäuse vor und nach den Experimenten zu je 4 bis 5 Tieren in Makrolon-Standardkäfigen, in denen "ssniff" Festfutter und jodisiertes Trinkwasser (0.1% NaJ) ad libitum zur Verfügung stand. Die präexperimentelle Jodierung des Trinkwassers war zur Absättigung der Jodspeicher in den Schilddrüsen nötig, um eine Einlagerung des im Versuch infundierten ^{125}J zu verhindern. Im Tierlabor wurden in Bezug auf die Luftfeuchtigkeit und Raumtemperatur konstante Bedingungen von 25°C bei 50% Luftfeuchtigkeit eingehalten; zudem war ein 12stündiger Tages- und Nachtrhythmus durch elektrische Beleuchtung gewährleistet. Um eine Fellkontamination durch Ausscheidung radioaktiver Fäces möglichst gering zu halten, wurden die Tiere täglich in neue Einwegkäfige mit frischer Streu umgesetzt.

2. Sarkom 180

Als Experimentaltumor diente das Crocker Sarkom 180, welches im Institut für Medizin der KFA Jülich seit Jahren serientransplantiert wird. Entwickelt hatte es sich 1914 als spontan aufgetretenes polymorphzelliges Sarkom in der Achselregion einer männlichen Maus (42). Es handelt sich dabei um ein malignes, schnellwachsendes und kaum metastasierendes Sarkom, dessen Zellzykluszeiten in Abhängigkeit vom Tumoralter relativ konstant sind. Während der Experimente trat bei einem Tier eine Absiedlung des Tumors im Halsbereich auf, bei einem zweiten Tier fand sich eine solitäre Lebermetastase. Insgesamt ist wegen der statistischen Seltenheit eine Filialisierung zu vernachlässigen. Für die einzelnen Zyklusphasen wurden für einen 5 Tage alten Tumor folgende Zellzykluszeiten ermittelt:

Zyklusgesamtdauer	T_C	=	13.6 h
G ₁ -Phase	T_{G1}	=	2.8 h
S-Phase	T_S	=	7.8 h
G ₂ -Phase	T_{G2}	=	2.5 h
Mitose-Phase	T_M	=	0.5 h (72, 83)

Mit zunehmendem Alter nahm die Zyklusdauer zu, so daß, man als Mittel 16 ± 2 h annehmen kann (45, 73, 85). In einer Tumorzellpopulation sind nicht alle Zellen jederzeit an der Vermehrung der Population beteiligt, sondern ein Anteil liegt in der bereits erwähnten G₀-Ruhephase vor. Derjenige Anteil an der Gesamtpopulation, der sich in Proliferation befindet (P Zellen), wird als "Growth-Fraction" (GF) bezeichnet und beträgt beim Sarkom 180 je nach Alter des Tumors etwa 0.7 (5. Tag) bzw. 0.5 (8. Tag) (83).

Es gilt:

$$GF = \frac{N_p}{N_p + N_q}$$

wobei N_p = Anzahl der proliferierenden Zellen

N_q = Anzahl der ruhenden Zellen

$$N_p + N_q = N_{\text{Gesamt}}$$

Unter bestimmten Annahmen (teilproliferatives System) entspricht die Wachstumsfraktion nach Steel (87):

$$GF = \alpha - 1$$

wobei der Faktor α die Anzahl der bei jeder Zellteilung gebildeten Zellen angibt und sich ableitet aus:

$$\frac{\ln \alpha}{T_C} = \frac{\ln 2}{T_2}$$

wobei T_C = Zellzykluszeit

T_2 = Verdopplungszeit.

Von der Growth-Fraction ist die mit zunehmendem Tumoralter größer werdende Tumorumfangverdopplungszeit als umgekehrte Funktion abhängig. Aus der Zunahme der Verdopplungszeit und der gleichzeitigen Abnahme der Wachstumsfraktion ergibt sich eine Abnahme der relativen Volumenzunahme mit fortschreitendem Tumoralter. Diese tumorkinetischen Parameter sind in Abb. 6 für das Sarkom 180 dargestellt.

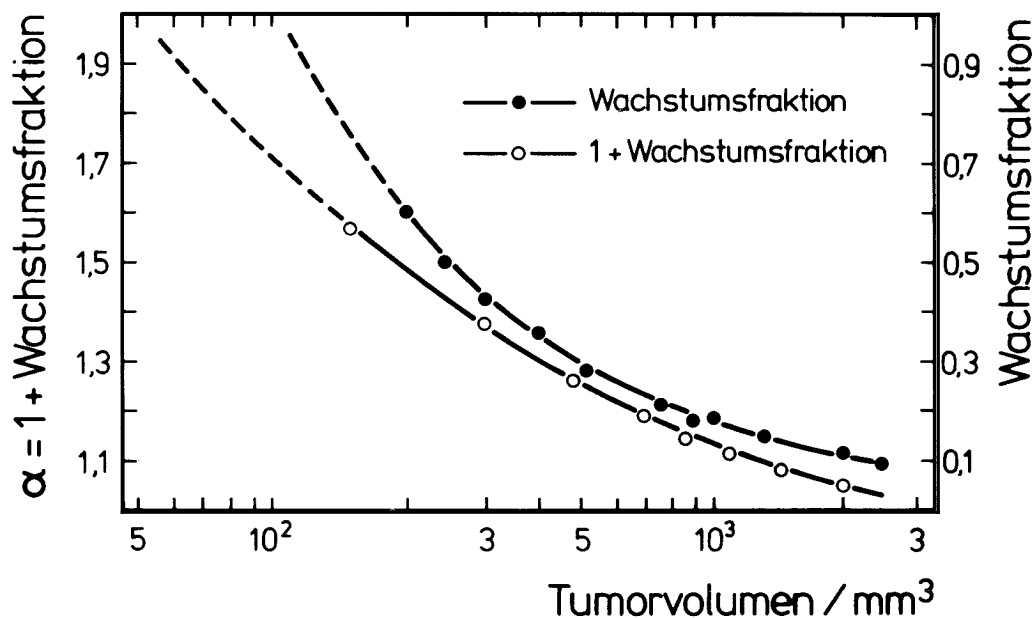


Abb. 6: Zusammenhang zwischen GF, Faktor α und Tumorumfang beim Sarkom 180 (73).

3. Transplantationstechnik

Im IME der KFA Jülich wird seit Jahren das Sarkom 180 serientransplantiert und ist dadurch permanent verfügbar. Der Ausgangstumor war von der Firma Grünenthal AG/Stolberg überlassen worden. Zur Serientransplantation werden jeweils Mäuse mit ca. 7 Tage alten und im Mittel 2,5 g schweren Tumoren durch Genickbruch getötet. Sodann wird der im rechten Hinterbein lokalisierte Tumor unter sterilen Bedingungen extirpiert und vom Unter- und Oberschenkelknochen abgeschält. Das Tumorgewebe wird in einigen ml eisgekühlter physiologischer NaCl-Lösung mit einer Schere in kleinste Stückchen zerschnitten und

suspendiert. Dabei gehen je nach Größe des Spendertumors 3 bis 7 Millionen Zellen in Suspension. Anschließend wird durch ein steriles Metallnetzfilter (mit Maschenweite 0,3 x 0,3 mm) filtriert. Zur Bestimmung des Gehalts an vitalen Zellen wird eine Probe mit 0,2%igem Trypanblau 1:10 verdünnt (Salipipette). Lebende Zellen färben sich wegen der Unversehrtheit der Zellmembran nicht an. Unter dem Mikroskop werden in einer Zählkammer die vitalen Zellen, die von der Größe und ihrer morphologischen Beschaffenheit her als Tumorzellen anzusehen sind, ausgezählt. Eine andere Möglichkeit besteht darin, alle vitalen und unversehrten Zellen zu zählen und anschließend einen Leukocytenkorrekturfaktor von 50% anzubringen. Nach entsprechender Umrechnung läßt sich nun jede gewünschte Konzentration der Lösung herstellen.

Bei unseren Experimenten wurden den Versuchstieren jeweils 300 000 Tumorzellen in 0.1 ml Suspension mit einer 20er Kanüle intramuskulär in den rechten Unterschenkel injiziert. Bereits nach 3 Tagen läßt sich ein Tumor am rechten Hinterbein tasten. Insgesamt lag die Rate der sich entwickelnden Tumoren bei über 90%. Tiere, die zu Versuchsbeginn keinen eindeutig tastbaren Tumor aufwiesen oder irgendwelche Auffälligkeiten zeigten, wurden verworfen.

4. ^{125}J oddesoxyuridin

Bei einer Reihe von in vivo-Untersuchungen zur Zellkinetik an tumortragenden Mäusen ist von Porschen und Feinendegen der radioaktiv markierte DNA-Vorläufer ^{125}J oddesoxyuridin (^{125}J -UdR) erfolgreich verwendet worden (30, 75). Das bei den Versuchen verwendete ^{125}J UdR wurde durch die Firma Amersham Buchler GmbH & Co. KG, 3300 Braunschweig, bezogen und lag in einer spezifischen Aktivität von ca. 5 Ci/mmol vor. Der Reinheitsgrad wurde mit 93% angegeben. Beim JdR handelt es sich um ein Thymidinanalogon, welches in Position 5 des Pyrimidinringes statt einer Methylgruppe ein Jodatom gebunden hat. Der Van-der-Waal'sche Radius des Jodatoms ist mit 2,15 Å unerheblich größer als der Radius der Methylgruppe (2 Å).

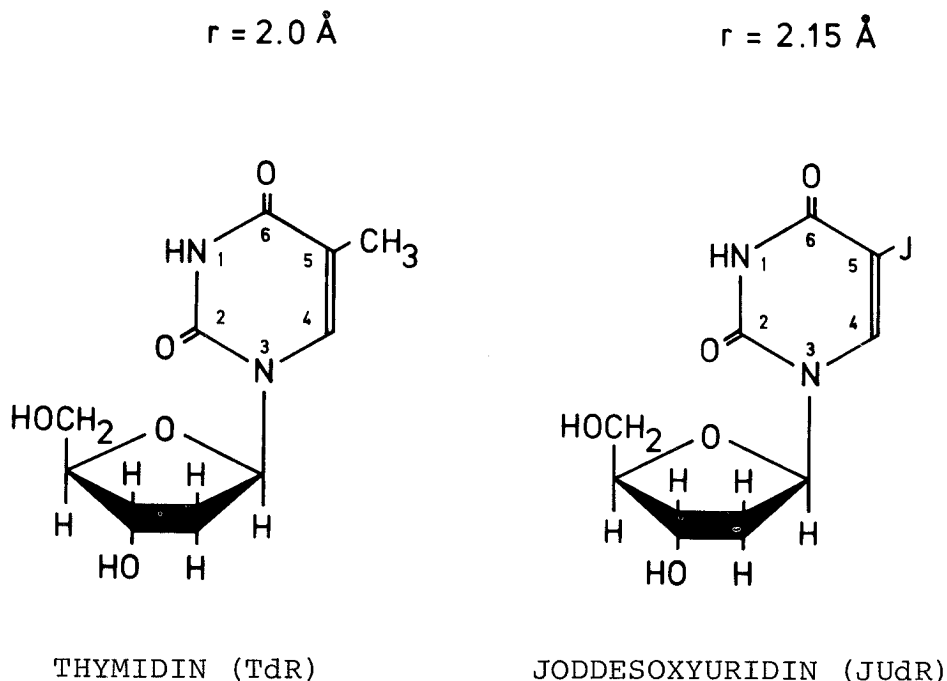


Abb. 7: Strukturformel von Thymidin und Joddesoxyuridin

Da die biochemischen und sterischen Eigenschaften von JdUR denen des natürlichen DNA-Vorläufers Thymidin stark ähneln, wird es bei entsprechendem Angebot in die DNA eingebaut. Dabei sind die gleichen Enzyme für die Metabolisation tätig wie beim Thymidineinbau. Die Verwertung des applizierten JdUR kann jedoch nur mit ca. 5% angenommen werden, da Messungen ergeben haben, daß 95% der Aktivität innerhalb der ersten 24 h in der Leber dehalogeniert und anschließend über die Nieren wieder ausgeschieden wird (30, 33, 49). Auch hat sich gezeigt, daß die Affinität der spezifischen metabolisierenden Enzyme zum Thymidin um ein Mehrfaches höher ist als zum JdUR, wodurch sich ein gewisser Verdrängungseffekt ergibt. Bei diesbezüglichen Versuchen hat sich gezeigt, daß JdUR entsprechend den Erwartungen in Geweben mit hoher Proliferationsrate eingebaut wird. Hierzu gehören in erster Linie der Magen-Darmtrakt, das Knochenmark, die Leber und die Milz als Zentralorgan des lymphatischen Systems (2, 48, 57, 58, 59). Da auch Tumorgewebe

eine überdurchschnittliche Zellerneuerungsrate besitzt, kann man annehmen, daß auch hier JUDR-Einbau erfolgt. Vergleichende Studien über die Einbauraten in kritischen Organen und im Tumor war Ziel einer im Rahmen der Langzeitinfusion gleichzeitig erstellten Dissertation (H.J.Röttger, unveröffentlichte Daten, (77)).

Wie bereits erwähnt, wird von der angebotenen JUDR-Menge nur etwa 5% spezifisch in die DNA eingebaut. Nur beim Zelltod frei werdendes JUDR kann wieder verwendet werden. Da jedoch auch in diesem Fall nur 5% des freien JUDR erneut in die DNA eingebaut wird, ist die Wiederverwertung vernachlässigbar klein.

5. Langzeitinfusion

Für die Durchführung einer intravenösen Langzeitinfusion bei Mäusen muß die Versuchsanordnung verschiedenen Anforderungen gerecht werden. Zum einen ist eine intravenöse Infusion bei Mäusen nur in eine der Schwanzvenen machbar, da andere oberflächliche Venen vom Kaliber her zu klein sind und infolge der Behaarung des Körpers kaum aufzufinden sind. Eine Katheterisierung tiefliegender großer Venen ist ohne "operative" Freilegung unmöglich und für Serienexperimente mit zu großem Aufwand verbunden. Zum anderen muß das Venenkathetermaterial weich und flexibel sein, damit die Venenwände nicht allzu leicht perforiert werden. Weiterhin darf es nicht zu Unverträglichkeitsreaktionen bei der Maus kommen. Das gesamte Infusionssystem muß beim Umgang mit radioaktiven Substanzen absolut dicht sein, da ein Verlust an Aktivität durch Undichtigkeit nicht nur zu verfälschten Ergebnissen, sondern auch zur Kontamination des Umfeldes führt.

Das größte Problem bei der Infusion über mehrere Tage stellt die Fixierung des Venenkatheters im Versuchstier dar. Es muß dabei eine Methode angewandt werden, die auf der einen Seite die Befreiungsversuche der Maus erfolglos werden läßt, andererseits die Beweglichkeit der Maus nicht soweit einschränkt, daß das Tier darunter unverhältnismäßig leidet.

Da die pro 24 Stunden zu infundierende Flüssigkeitsmenge von 5 ml bei einer Maus mit einem Gewicht von 25 bis 30 g

nicht überschritten werden sollte, mußte man über entsprechende Infusionspumpensysteme verfügen, die kontinuierlich kleine Durchflußraten aufrecht erhalten können. Letztlich ist noch gefordert, die Versuchsanordnung und den Aufbau so zu wählen, daß möglichst viele Versuchstiere gleichzeitig infundiert werden können, und daß die Experimente sich leicht überwachen lassen.

5.1. Katheterherstellung

Da es im Handel keine fertigen Verweilkatheter der geforderten Größen gibt, ist es nötig, die Katheter vor den jeweiligen Experimenten selbst herzustellen. Als Material hierfür erwiesen sich Polyäthylenschläuche (Intramedic P.E., Medical Formulation PHF) der Firma Vogel, Gießen, die bereits tiergeprüft und frei von Gewebereaktionen sind, als geeignet. In unserem Fall wurden als Katheter Schläuche mit einem Innendurchmesser von 0.28 mm und einem Außendurchmesser von 0.61 mm verwendet. Für die Zuleitung von den Infusionspumpen kamen PVC-Schläuche mit einem Innendurchmesser von 0.7 mm zur Anwendung. Um die Katheter mit den Zuleitungsschläuchen flüssigkeitsdicht zu verbinden, wurden sie zweifach miteinander verklebt. Dazu wird der Katheter etwa 4 cm weit in den Zu-

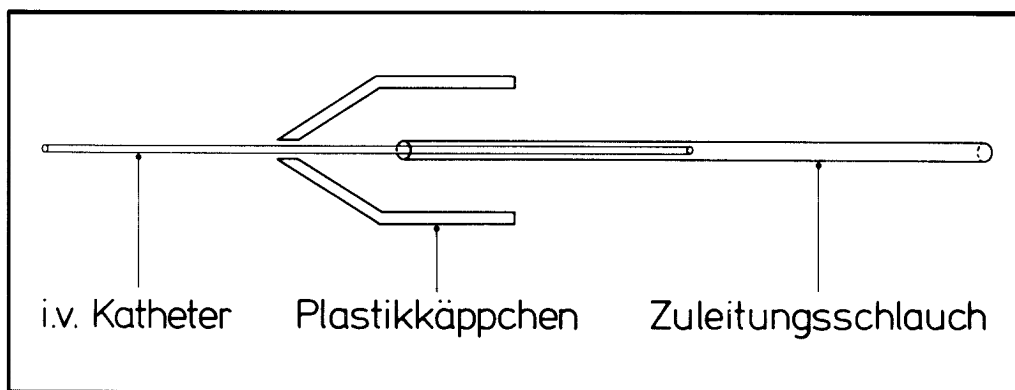


Abb. 8: Schematische Darstellung der Schlauchkopplungsstelle

leitungsschlauch eingeschoben. An der Eintrittsstelle wird ein Tropfen des in Sekunden abbindenden Klebers Locktide 555 aufgebracht. Da dieser Kleber sehr dünnflüssig ist, saugt er sich durch die Kapillarwirkung in den Spaltraum zwischen Katheteraußenwand und der Innenwand des Zuleitungsschlauches.

Nun wird als eigentliche Sicherung die Eintrittsstelle von außen mit wasserdichtem Kleber (UHU-Plus) ummantelt. Hierbei fanden die Schutzkappen der im Labor gebrauchten Einmalspritzen Verwendung. Es handelt sich um kleine, zylindrische Plastikköppchen, in deren Boden mit Hilfe einer heißen Kanüle ein Loch gebrannt wird, so daß der Katheter gerade hindurchpaßt. Man schiebt nun die Kupplungsstelle des Schlauchsystems etwa zentral in den Hohlraum des Köppchens ein. Dann wird der zähflüssige Zwei-Komponenten-Kleber mittels einer Spritze in den Hohlraum gepreßt, so daß die Kupplungsstelle allseits gleichmäßig von einer Kleberschicht ummantelt ist. Die normalerweise 24 Stunden dauernde Aushärtungszeit läßt sich durch Erwärmung mit Infrarotlicht auf 6 Stunden reduzieren. Zur Verbindung der Zuleitung mit den Infusionspumpen bzw. Spritzen werden stumpfgeschliffene und entgratete Stahlkanülen (Braun-Melsungen Nr. 1; 0.9 mm) in die Verbindungsschläuche eingeschoben. Die elastischen Schläuche legen sich der Kanüle dicht an, so daß hier kein Flüssigkeitsaustritt feststellbar war.

Jedes gefertigte Kathetersystem wurde vor Gebrauch mit der höchsten Perfusionsdruckstufe (190 ml/h) durchspült, um die Dichtigkeit zu überprüfen. Als Infusionspumpen dienten für die Versuche die Geräte Perfusor VI der Firma Braun, Melsungen. Es handelt sich hierbei um elektrisch betriebene Synchronmotoren mit einem 10-stufigen Getriebe, die die Möglichkeit der exakt reproduzierbaren Fördergeschwindigkeit gewährleisten. Durch einen als Zubehör lieferbaren Aufsatz können gleichzeitig drei 10-ml-Spritzen auf einem Gerät Platz finden. Bei Verwendung der kleinsten Fördergeschwindigkeitsstufe ergab sich die benötigte Förderleistung von 0.2 ml/h für jedes Infusionssystem.

5.2. Beschreibung der Infusionsapparatur

Als Grundbaustein der Infusionseinheit benutzten wir einen fahrbaren Regalständer, der zur Aufnahme von normalerweise

60 Mäusekäfigen dient (siehe Foto I). Gestelle dieser Art finden im hiesigen Tierhaus zur platzsparenden Unterbringung und Pflege der Labormäuse Verwendung. Die von beiden Seiten zugänglichen Gestelle sind für die Infusionsapparatur nur von einer Seite mit Mäusekäfigen bestückt, so daß sich bei 5 nebeneinander liegenden Käfigen, die in 6 Reihen übereinander angeordnet sind, eine Kapazität von 30 Mäusen pro Regalgestell ergibt. Bei einer Länge von ca. 2 m und einer Tiefe von 1 m läßt sich das Gestell relativ problemlos unterbringen. Auf der anderen Seite des Gestells werden die Infusionspumpen für die Langzeitinfusion untergebracht.



Foto I - Fahrbarer Regalständer für Käfige

Die verwendeten Käfige sind klarsichtige Makrolon-Standardkäfige Typ II in den Grundabmessungen 16 cm x 22 cm und einer Seitenwandhöhe von 15 cm, die sich gut sterilisieren lassen (Hersteller Fa. Ebeco). Als Deckel dient ein verzinkter Drahtgitterrahmen, der eine Aufnahmemulde für das Futter und die Trinkwasserflasche enthält. Trockene, feine, autoklaviierte Weichholzhobelspäne, die den Boden in ca. 2 cm Dicke belegen sollten, wurden als Streu verwendet.

In eine Stirnwand der Makrolonbehälter wird ein senkrechter Schlitz von 11 mm Breite und 13 cm Länge eingefräst, der am unteren Ende etwa 2 cm über dem Boden leicht aufgeweitet ist. In diesen Schlitz läßt sich das Plastikschrutzrohr, in welchem der Mäuseschwanz mit dem Venenkatheter fixiert ist, vertikal bis in die Erweiterungsbohrung einschieben, in welcher Vor- und Rückbewegungen leicht möglich sind. Auf das Schutzrohr sind am vorderen und hinteren Ende Hülson aufgeschoben, die den Außendurchmesser des Rohres soweit vergrößern, daß es von der Maus nicht durch die Erweiterungsbohrung herausgezogen werden kann. Die vordere Hülse wird zweckmäßig aus Metall gedreht, um das im Käfig befindliche Ende des Plastikrohres vor dem Zernagen zu sichern. Somit ist für die Maus eine Bewegung im Käfig nach vorne und rückwärts um den Betrag der Rohrlänge möglich. Gleichzeitig erlaubt das Maß der Erweiterungsbohrung ein seitliches Ausscheren des Rohres um etwa 45° nach links und rechts. Auf diese Weise kann die Maus jede beliebige Stelle des Käfigs erreichen, ohne sich von der Infusion loszureißen (Foto II).

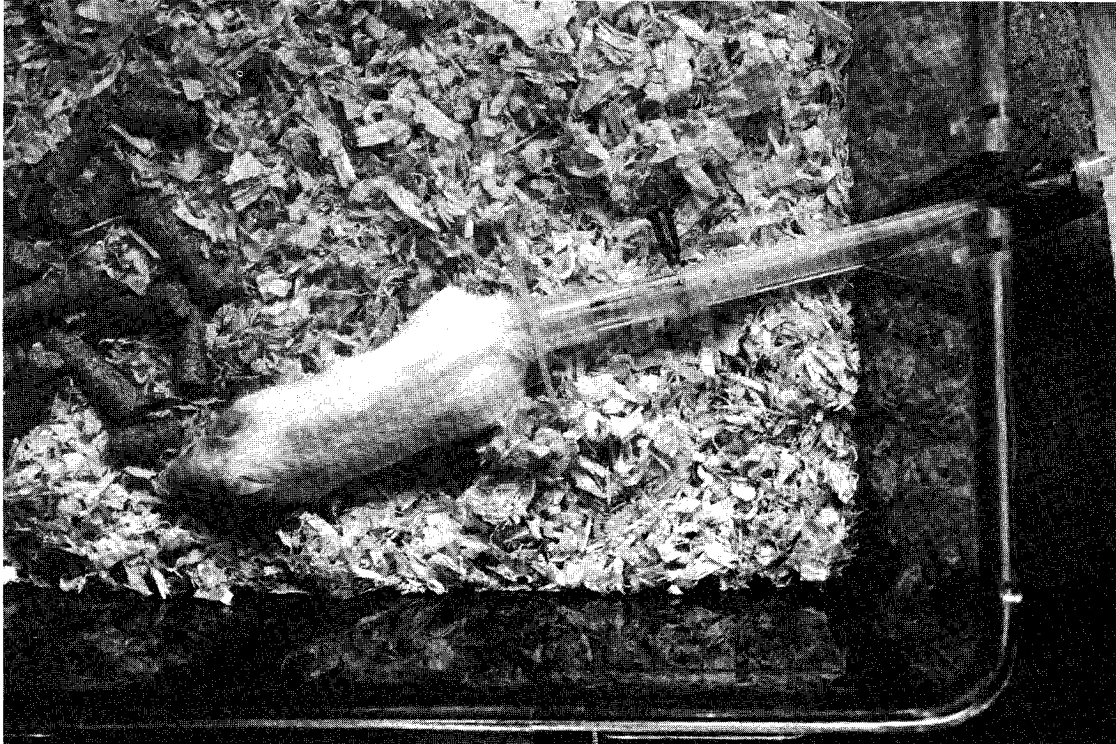


Foto II - Makrolonkäfig mit eingefrästem Schlitz
und fixierter Maus.

5.3. Infusionsdurchführung

5.3.1. Vorbereitung der Versuche

Für die hier beschriebenen Versuche wurden Mäuse verwendet, deren Tumorzellimplantation 3 bzw. 5 Tage zurücklag. Als Auswahlkriterien galten dabei ein tastbarer Tumor im rechten Hinterbein, ein Lebensalter von 10 bis 12 Wochen und ein Ausgangskörpergewicht von 25 bis 30 g bei sonst unauffälligem Verhalten und Aussehen. Die Tiere wurden mit farbigen Fellmarkierungen versehen, um über die gesamten Meßreihen Fehler durch Verwechslungen auszuschließen. Im Rahmen der Experimente wurden drei Gruppen von Mäusen gebildet:

- 1) Tumortragende Mäuse, welche mit Langzeitinfusion von radioaktivem ^{125}J UdR behandelt wurden, im folgenden MTI genannt;

- 2) Tumortragende Kontrolltiere, welche mit Langzeitinfusion von 0.9%iger NaCl-Lösung oder äquivalenter Menge "kaltem" JUDr behandelt wurden, im folgenden MTK genannt;
- 3) Nicht tumortragende Kontrolltiere, welche mit Langzeitinfusion von radioaktivem $^{125}\text{JUDr}$ behandelt wurden, im folgenden MNI genannt.

Zum Anlegen der Infusion wird die Maus in eine für Einmalinjektionen vorgesehene Halterung gesetzt, wobei lediglich der Mäuseschwanz aus dem hinteren Teil des Gehäuses herauschaut (Foto III). Das Kathetersystem, welches zuvor durch Alkoholspülung keimfrei gemacht worden ist, wird an eine separate Infusionspumpe mit 0.9% NaCl-Lösung angeschlossen und gefüllt. Der Katheter wird nun in eine Einmalkanüle Nr. 1 (0.9 mm) eingeführt, so daß er gerade nicht an der Kanülenspitze erscheint. Nach Aufsuchen einer geeigneten Schwanzvene wird die Einstichstelle, die etwa 3 cm caudal der Schwanzwurzel liegen sollte, mit Alkohol desinfiziert und die Vene mit der Kanüle punktiert. Bei intravasaler Kanülenlage wird nun der Katheter vorsichtig durch die Kanüle nach cranial geschoben. Bei korrekter Kanülenlage läßt sich der Katheter leicht vorschieben und drückt dabei äußerlich deutlich sichtbar die venöse Blutsäule in dem Blutgefäß vor sich her. Ist der Katheter bis 0.5 - 1 cm vor der Schwanzwurzel eingeführt, wird die Kanüle über den Katheter zurückgezogen und die Punktionsstelle sofort mit einem Tropfen Histoacryl-Gewebekleber (Fa. Braun - Melsungen) verschlossen. Dieses Verfahren gewährleistet ein sekundenschnelles Abdichten, da Histoacryl bei Kontakt mit Feuchtigkeit sofort polymerisiert.

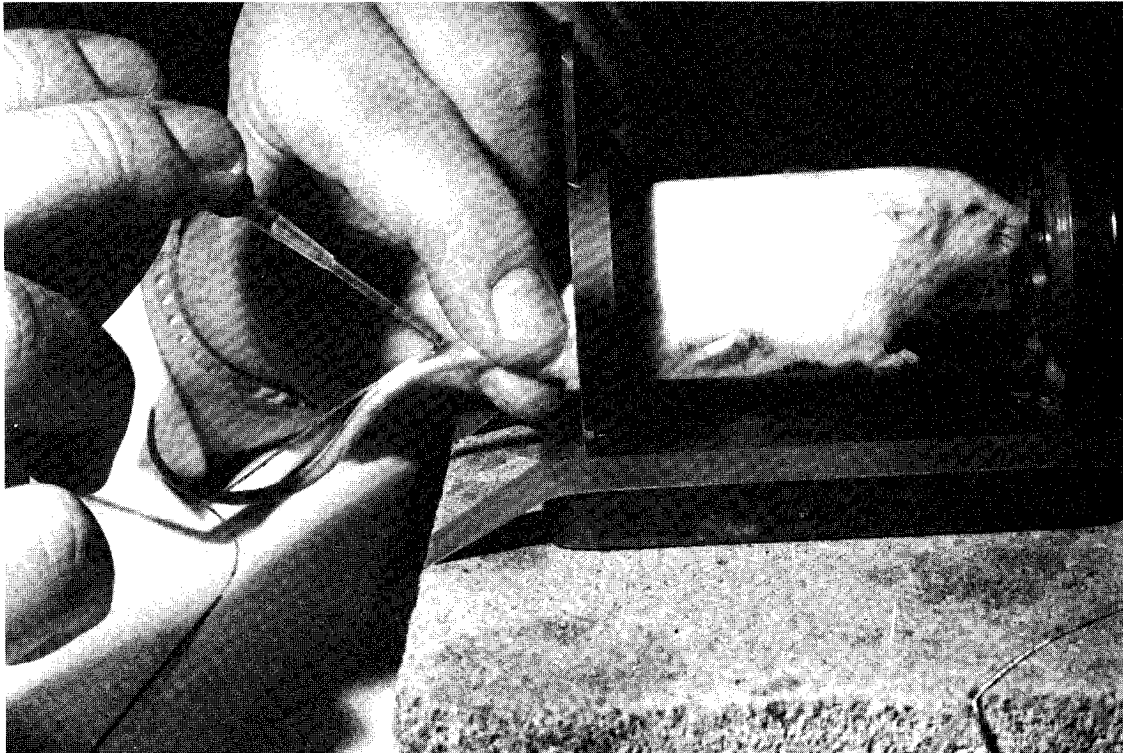


Foto III - Gehäuse für die Kathetereinlage in eine Schwanzvene.

Der Mäuseschwanz wird nun mit dem Katheter durch ein geschlitztes Plexiglasrohr gezogen und durch eine quer eingestochene kleine Kanüle in dem Schutzrohr fixiert. Bei subtil durchgeführter Anwendung bleibt das Infusionssystem bis zum Ende des Experimentes funktionsfähig und dicht.

Untersuchungen mit Röntgenkontrastmittel vor und nach Infusion haben gezeigt, daß bei äußerlicher Unversehrtheit des proximalen Schwanzdrittels eine dauernde intravasale Katheterlage angenommen werden kann. Bei der Röntgenkontrolle wird den Mäusen 0.15 ml Kontrastmittel (Conray 80; Fa. BYK-Gulden, Lomberg) während einer Minute über das Kathetersystem infundiert. Die Spritze mit dem Kontrastmittel wird während der Infusion durch einen Glastemperiermantel auf 38°C gehalten, da sonst wegen der hohen Viskosität des Kontrastmittels mit der hohen Infusionsgeschwindigkeit die Venenwand beschädigt

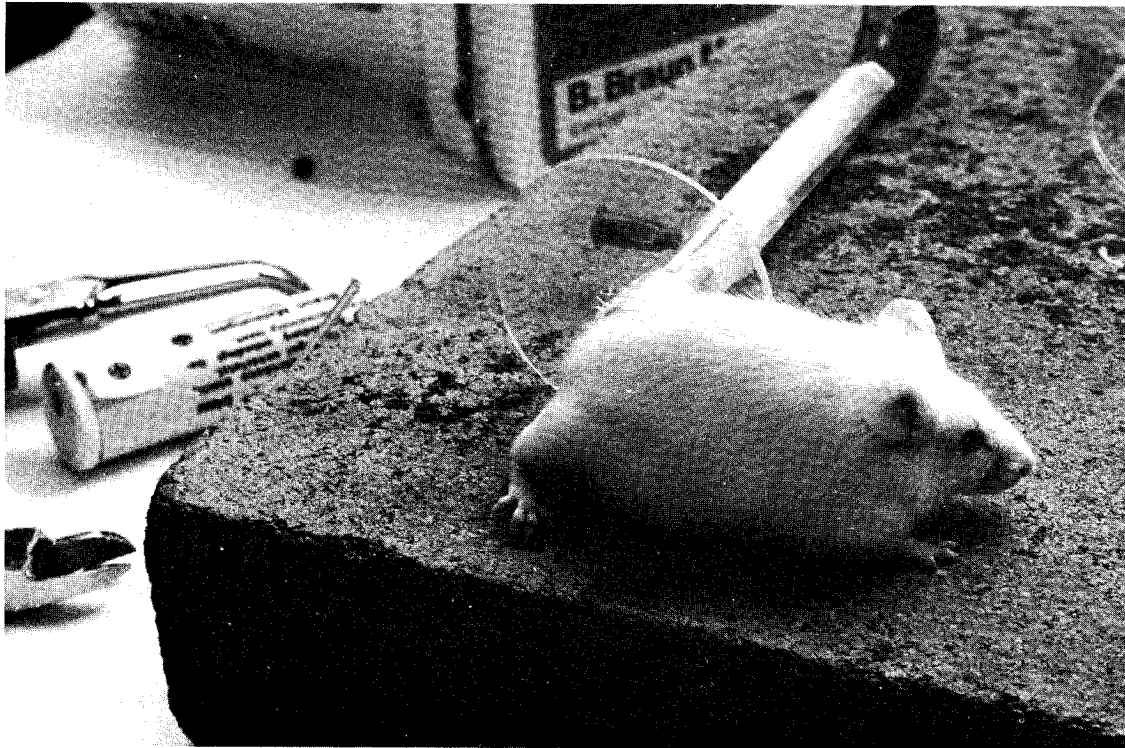
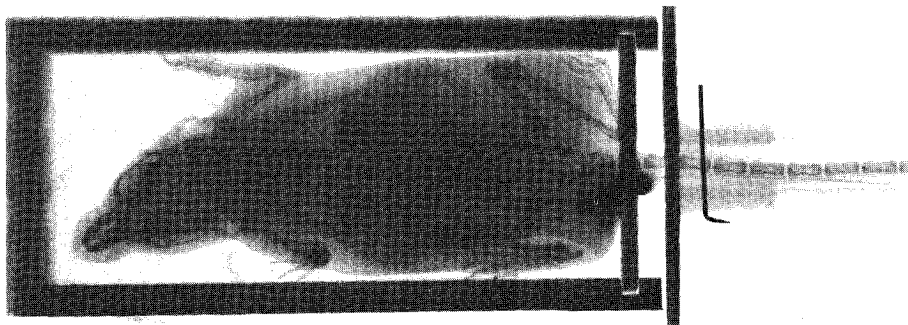


Foto IV - Fertig angebrachtes Infusionssystem

werden kann. Bereits nach 10 - 20 Minuten ist das Kontrastmittel über die Nieren ausgeschieden. Bei korrekter Lage des Infusionssystems zeigt sich auf der Röntgenaufnahme eine deutlich kontrastmittelgefüllte Blase, sofern sie nicht vorzeitig entleert worden ist. Bei paravenöser Katheterlage sieht man um die Schwanzwurzel diffus im Gewebe verteilt ein Kontrastmitteldepot (Röntgenaufnahmen A und B, Foto V).



A) Korrekte Katheterlage



B) Paravasale Katheterlage

Foto V: Kontrastmitteltest für die Katheterlage

Flüssigkeitsniederschlag im Plexiglasrohr oder ödematöse Aufquellung der Schwanzwurzel sind Zeichen einer paravasalen Infusion. Eine nicht exakte Katheterlage mußte während der Experimente bei etwa 10% der Tiere angenommen werden. Diese Mäuse wurden jeweils aus dem Versuch eliminiert.

5.3.2. Durchführung der Versuche

Wenn die Mäuse mit dem Infusionssystem verbunden sind, werden sie in die bereits beschriebenen Makrolon-Käfige gesetzt. Dann kann mit der Infusion des radioaktiven ^{125}JdR begonnen werden. Jeder Maus wurde eine Gesamtaktivität von 100 μCi appliziert. Die Infusionsdauer betrug 10 Tage. In dieser Zeit wurde der Maus zusätzlich jodiertes Trinkwasser und Festfutter ad libitum angeboten. Um die unumgängliche Fellkontamination durch radioaktiven Urin möglichst gering zu halten, wurde die Streu in den Käfigen im 2-Tagerhythmus erneuert. Eine zu Beginn der Versuche bei 15% liegende Mortalität während der Infusion führten wir z.T. auf die Streßbelastung im Versuch zurück. Aus diesem Grunde wurde der Infusionslösung Diazepam (Valium^R) 0.2 mg/50 ml zugeschlagen. Ein Einfluß des Diazepam auf das Tumorstadium oder andere wichtige Stoffwechselwege kann ausgeschlossen werden (17, 35, 60). Unter diesen Bedingungen sank die Mortalität unter 10%. Dabei ist anzumerken, daß die Sterberate bei den tumortragenden Mäusen an der Infusion gleich groß wie bei den Kontrollmäusen war. Die Raumtemperatur während der Experimente

wurde so gut wie möglich zwischen 23°C und 27°C gehalten.

Nach Ablauf der Infusionsdauer wurden den Versuchstieren nach vorhergehender Inspektion der lokalen morphologischen Verhältnisse die Katheter gezogen. Anschließend wurden alle Mäuse in einer warmen Seifenlauge einige Minuten gebadet, um das Fell zu dekontaminieren. Nach grober Trocknung in Zellstofftüchern wurden die Tiere dann bis zur vollständigen Trocknung einer Infrarotbeleuchtung ausgesetzt. Durch das Baden der einzelnen Mäuse wird die Ganzkörperaktivität zum Teil bis zu 30% reduziert.

6. Meßtechnik

Mit den Messungen wurde jeweils 24 h nach Infusionsbeendigung begonnen (Meßtag 0). Diese Zeit wurde eingehalten, damit das frei im Gewebe und Blut der Maus befindliche ^{125}JdR , welches noch nicht in die DNA eingebaut war, ausgeschieden werden konnte. Die Messungen wurden ab diesem Zeitpunkt zunächst in 5-tägigem Abstand wiederholt (Meßtage 5, 10, 15, 20, 25). Die Versuchstiere, die am 30. Tag nach Infusionsende noch lebten, wurden weiter bis zum Tode in 7-tätigem Rhythmus gemessen. An jedem Meßtag wurde das Körpergewicht, das Tumolvolumen sowie die Ganzkörperaktivität der Tiere bestimmt, die bis dahin überlebten. Insgesamt kamen für diese Experimente 243 Mäuse zur Verwendung.

6.1. Tumolvolumenbestimmung

Zur Bestimmung des Tumolvolumens wurde mit einer Schublehre der Tumordurchmesser D ermittelt und das Volumen nach der Formel

$$V = 0.525 \times D^3 - 65 \text{ (mm}^3\text{)}$$

berechnet. Hierbei wird das Volumen des gesunden Beines mit 65 mm^3 angenommen und vom Tumolvolumen subtrahiert (8, 74, 75). Diese Messungen wurden jeweils von der gleichen Person durchgeführt, um Fehler durch differierende Meßtechnik auszuschließen.

Die Berechnung des Tumolvolumens auf der Grundlagen einer Kugel kommt dem tatsächlichen Tumolvolumen bei Tumoren über

7 cm³ Volumen sehr nahe, unterhalb dieses Volumens muß ein Korrekturfaktor entsprechend Abb. 9 angewendet werden. Die Korrekturkurve konnte aus exakten Volumenmessungen nach Tumorextirpation bzw. Tumorgewichtsmessungen erstellt werden. Angenommen wurde dabei ein spezifisches Gewicht von 1 für das Tumorgewebe.

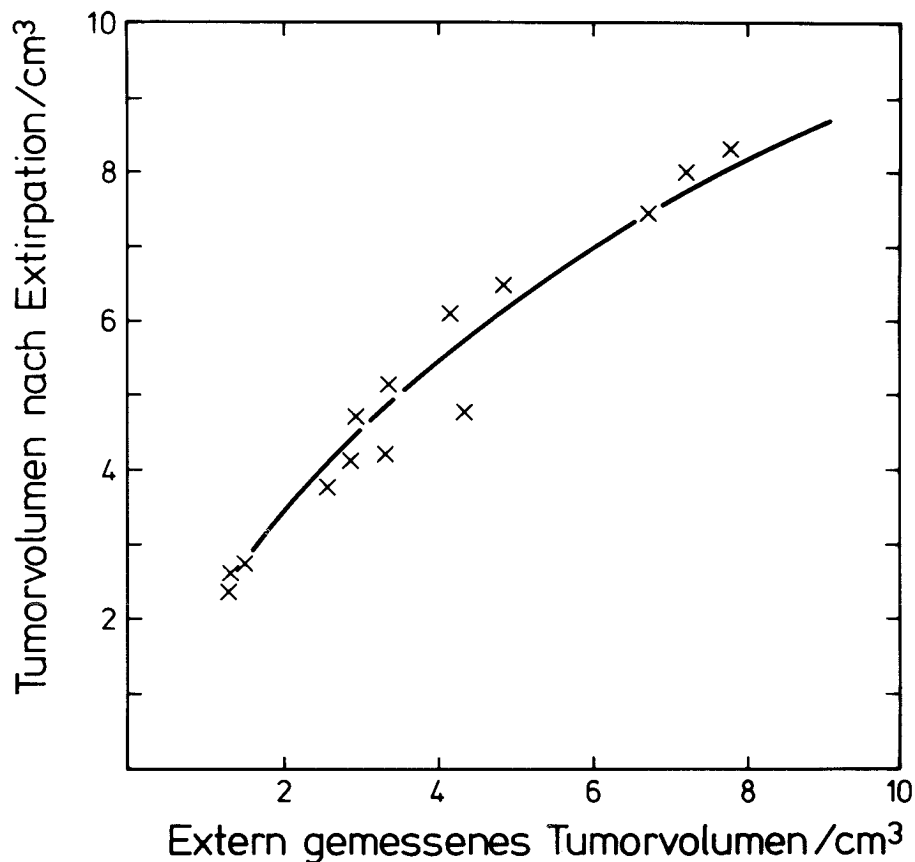


Abb. 9 Korrekturkurve für Tumolvolumenbestimmung

6.2. Ganzkörperaktivitätsmessung

Zur Bestimmung der Ganzkörperaktivität diente ein speziell für die Messung von Mäusen eingerichteter Ganzkörperzähler, der im IME der KFA Jülich entwickelt worden war. Hierbei liegen sich zwei NaJ-Szintillationsdetektoren in einem abgeschirmten Gehäuse gegenüber. Die Impulse werden getrennt von-

einander verstärkt und summiert. Die gemessenen Impulsraten werden digital angezeigt. Die Meßvorrichtung war bei den Versuchen auf die Erfassung der 35 keV-Gammastrahlung des ^{125}J

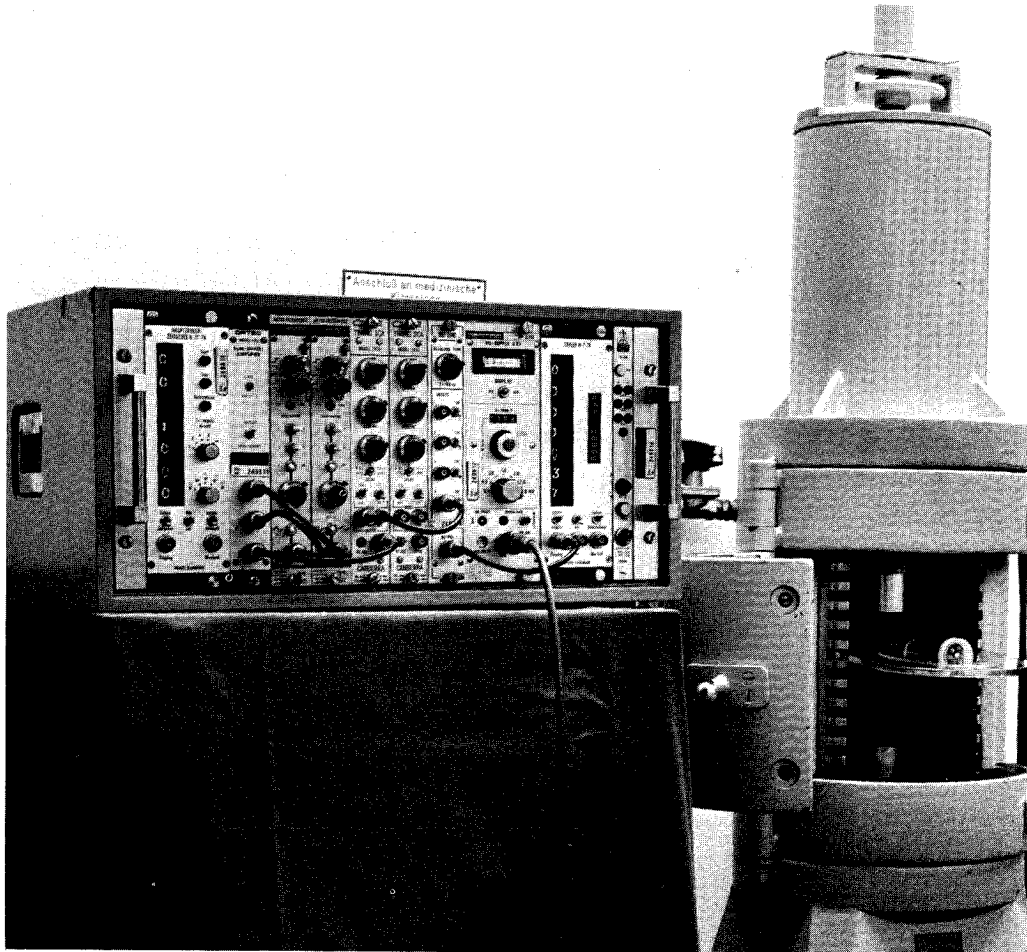


Foto IV - Ganzkörperzähler für Kleintiere

eingestellt. Zur Messung wurden die Mäuse zwischen den beiden Detektoren in passende Plexiglasröhren eingebracht. Zum Kontaminationsschutz waren die Detektoren mit dünnen Plastikfolien abgedeckt.

Die Meßdauer betrug jeweils 3 x 1 min. Die Ergebnisanzeige erfolgte in Impulsen pro Minute (ipm). Die Ausbeute des Ganzkörperzählers wurde durch Eichproben mit ^{125}J uR ermittelt und lag bei 2,5%. Die angezeigten Werte mußten jeweils um die mittlere Untergrundaktivität der Umgebung reduziert werden. Bei unseren Messungen lag der Wert zwischen 80 und 200 ipm. Die Meßeinrichtung wurde während der gesamten Versuchsserien jeweils mit einem Jod-Standard überwacht. An die

gemessenen und Untergrund-korrigierten Zählraten mußte bei den statistischen Auswertungen noch jeweils eine Korrektur für den natürlichen Jodzerfall und für die Eigenabsorption der Maus angebracht werden. Für die Eigenabsorptionsmessung wurde die Gewebedichte von Wasser angenommen und ein mittlerer Wert von 15% bestimmt.

6.3. Körpergewicht und Tumoraktivität

Bei der Auswahl der Versuchstiere für die Experimente war neben dem Alter das Körpergewicht ein entscheidendes Kriterium. Während der Versuche wurde an jedem Meßtag das Körpergewicht bestimmt. Die Genauigkeit betrug ± 0.1 g. Die Bestimmung der in den Tumor eingebauten Aktivitätsmenge geschah an den bestimmten Meßtagen im Rahmen der gleichzeitig erstellten Dissertation (H.-J. Röttger), wobei die Tumoren aus den getöteten Tieren exzidiert wurden und die Aktivität der Tumormasse im Autogamma-Probenwechsler (Gammazint BF 5300 der Firma Packard) gemessen wurde.

IV VERSUCHSERGEBNISSE

1. Elektronische Datenverarbeitung

Die Auswertung der Meßergebnisse wurde mit einem programmierbaren elektronischen Taschenrechner (Casio FX 501 P) vorgenommen. In den Programmen zur Berechnung der Aktivitätsverlusten wurden die Meßwerte jeweils direkt hinsichtlich der Hintergrundstrahlung, des Jodzerfalls und der Eigenabsorption der Maus korrigiert. Bei der Berechnung der Tumorumfänge wurde bei Tumoren, die kleiner als 7 cm^3 waren, eine Korrektur gemäß der Kalibrierkurve vorgenommen.

2. Tumorwachstumskurven

Die in Abb. 10 dargestellten Tumorwachstumskurven beziehen sich auf eine Infusionsdauer von 10 Tagen, in denen jeder Maus eine Gesamtaktivität von $100 \mu\text{Ci } ^{125}\text{JUdR}$ infundiert wurde. Das Tumoralter betrug zu Versuchsbeginn 3 Tage. Der Kurvenverlauf der MTI entspricht im wesentlichen den bereits bekannten Wachstumskurven des Sarkoms 180 bzw. dem der Kontrollgruppe MTK mit zunächst steilem Anstieg, welcher nach einer Bremsphase in einem Plateau endet. Am ersten Meßtag nach Infusionsende betrug die Wachstumsverzögerung der MTI gegenüber MTK 34,3 Vol%. Dieser Wert verringerte sich im weiteren Beobachtungszeitraum auf 23,2 Vol% am Meßtag 25. Im Mittel ergibt sich über den gesamten Zeitraum eine prozentuale Wachstumsverzögerung von 26.6%. Da beide Kurven nach der Infusion nahezu parallel zueinander verlaufen, ist der proliferationshemmende Effekt von $^{125}\text{JUdR}$ nur während der Infusionsperiode anzunehmen. Danach scheint sich die Tumorzellpopulation der MTI gleich wie die der MTK mit unveränderter Wachstumskinetik zu vergrößern.

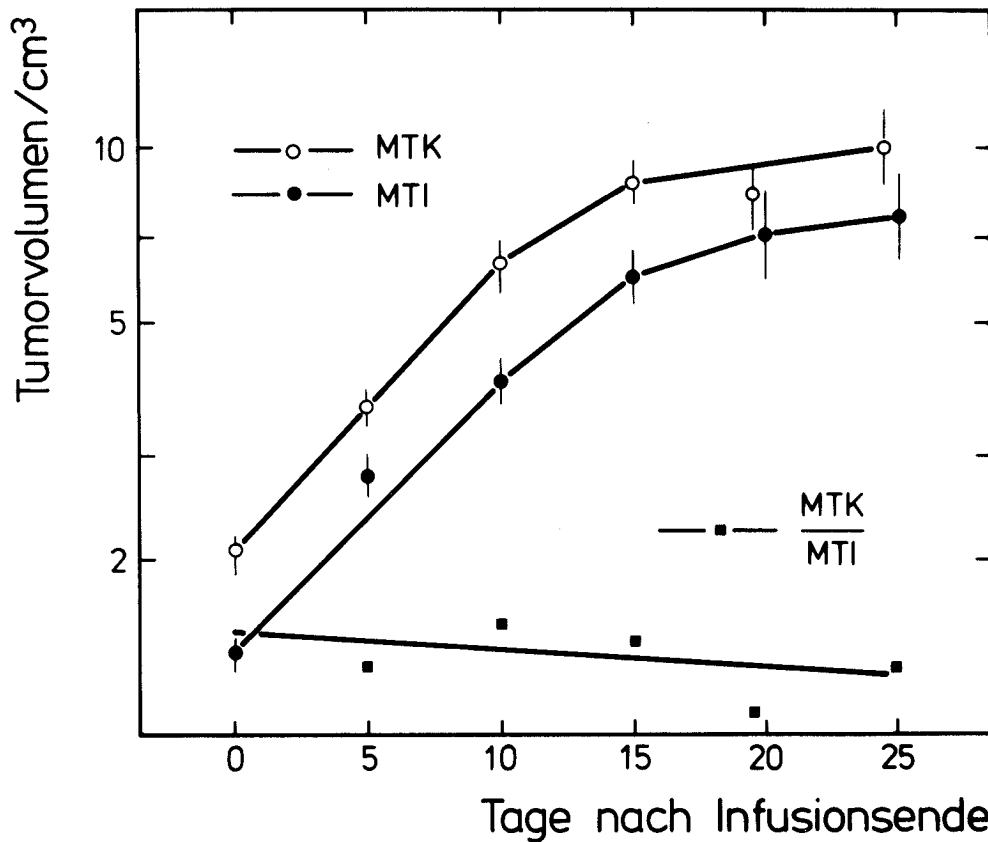


Abb. 10: Tumorwachstumskurve aller MTI und MTK mit Infusionsbeginn 3 Tage nach Tumorzellinokulation, mit Standardfehlern

In einer anderen Betrachtungsweise entspricht die Wachstumsverzögerung der MTI gegenüber den MTK am Meßtag 0 einem Zeitintervall von 4 Tagen, am Meßtag 10 von 7 Tagen. Anhand dieses Vorsprungs der MTK könnte erwartet werden, daß die Lebensdauer der MTI bis zum Erreichen der durchschnittlich letalen Tumorgroße verlängert wäre. Eine solche lebensverlängernde Wirkung zeigte sich wohl in Einzelfällen, jedoch nicht signifikant für die gesamte Versuchsgruppe. Aus dem Säulendiagramm in Abb. 11 läßt sich erkennen, daß die Verluste in beiden Gruppen etwa gleichförmig verlaufen. Die im Diagramm aufgeführten Daten für den Meßtag 37 ergeben zwar

für die MTI eine mehr als doppelt so hohe Überlebensrate an, jedoch handelt es sich hierbei absolut nur um 6 MTI und um 2 MTK-Tiere.

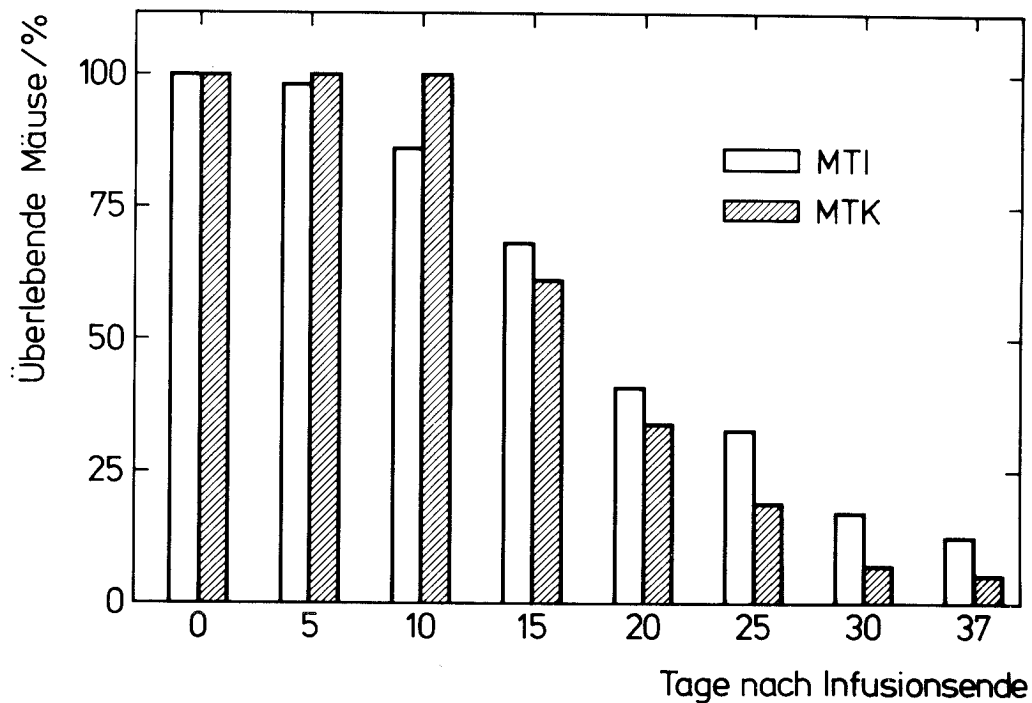


Abb. 11: Prozentualer Anteil der lebenden MTI und MTK bezogen auf Meßtag 0

Die in Abb. 12 dargestellten Tumorwachstumskurven beziehen sich auf die gleichen Versuchsparemeter, d.h. Infusionsdauer 10 Tage mit einer Gesamtaktivitätsmenge von 100 $\mu\text{Ci } ^{125}\text{JdR}$, jedoch waren die implantierten Tumoren bei Infusionsbeginn 5 Tage alt.

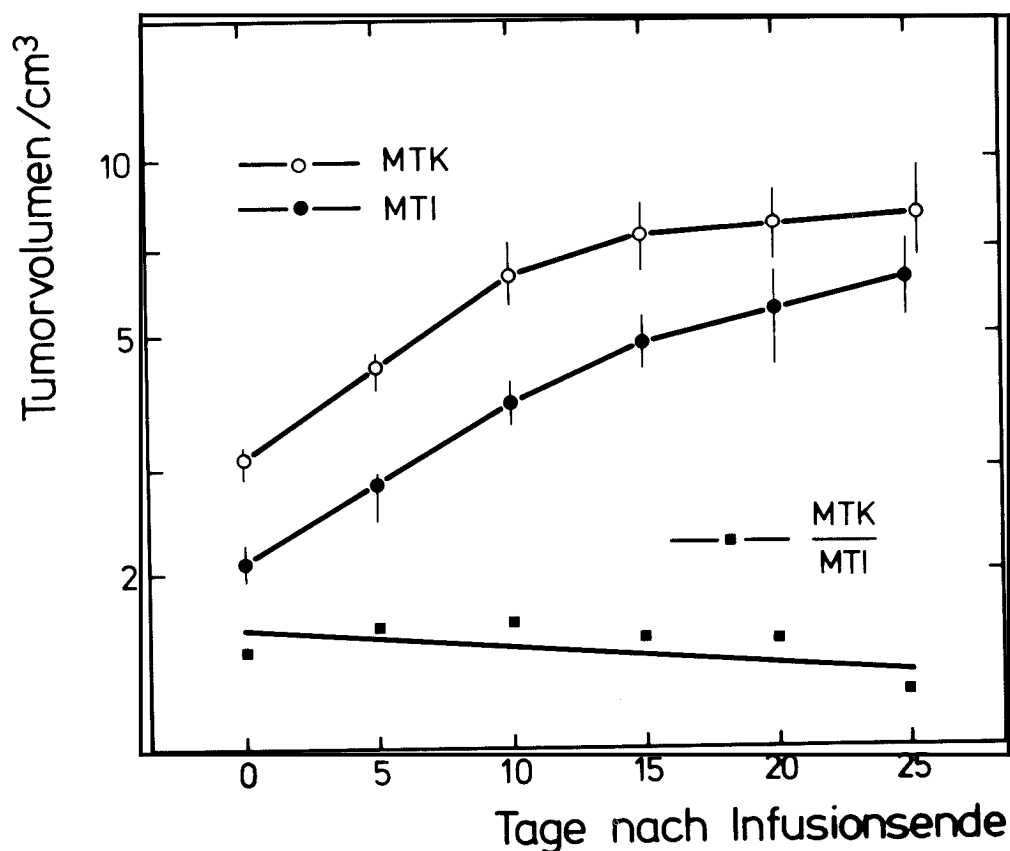


Abb. 12: Tumorwachstumskurven aller MTI und MTK mit Infusionsbeginn 5 Tage nach Tumorzellinokulation, mit Standardfehlern

Hier zeigte sich nun am Meßtag 0 in beiden Gruppen ein größeres Tumolvolumen gegenüber den in Abb. 10 dargestellten Versuchen. Einerseits läßt sich dieser Wachstumsvorsprung damit erklären, daß die Tumorzellpopulation zu Beginn der Infusion bereits größer war und mehr Zellen die Proliferation unterhielten. Dagegen steht andererseits die Tatsache, daß die Tumolvolumen der Kontrolltiere in Abb. 12 am Tag 0 größer sind als die der MTK in Abb. 10 am Tag 2. Auch zeigt sich insgesamt bei den älteren Tumoren ein flacherer Kurvenverlauf, so daß bei gleichgebliebenen Versuchsparametern eine Änderung des Wachstumsverhaltens des Sarkom 180 eingetreten sein könnte. Diese Theorie wird unterstützt durch die Tatsache, daß die Wachstumskurven der Kontrolltiere in den Versuchen, die 1980 durchgeführt wurden, bei gleicher inokulierter Zellzahl einen schnelleren Volumenanstieg zeigten als ver-

gleichbare Studien früherer Jahre (71, 72).

3. Tumorregression

Wie bereits eingangs erwähnt, ist beim Tumorsystem Sarkom 180 durch Immunabwehrreaktionen mit einer spontanen Tumorregressionsrate von etwa 10% zu rechnen. Diesem Wert entsprechen die bei den Experimenten beobachteten Ergebnisse sehr genau. Ein Unterschied zwischen aktiv infundierten Mäusen und Kontrolltieren ergab sich nicht. Die entsprechenden Tumorumfänge nehmen in beiden Versuchstiergruppen vom 1. Meßtag nach der Infusion kontinuierlich ab und erreichen zwischen Meßtag 30 und 37 den Wert 0 (Abb. 13). Eine verkürzte Lebensdauer oder sonstige Spätschäden konnten bei keinem Tier beobachtet werden.

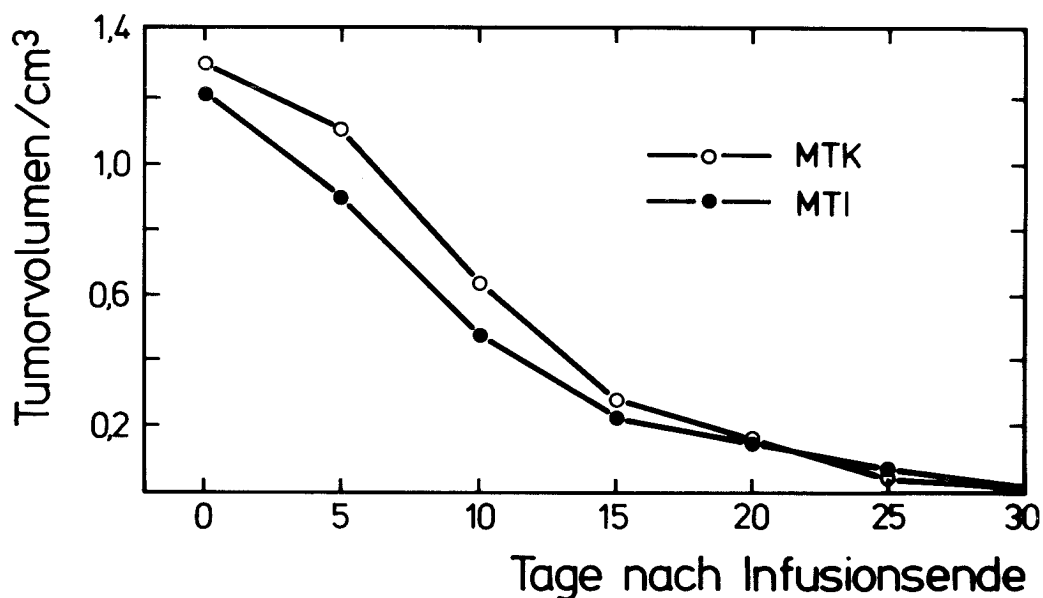


Abb. 13: Tumorregression der MTI bzw. spontane Tumorregression der MTK (jeweils etwa 10% der Versuchstiere)

4. Ganzkörperaktivitätsabfall

Die erste Messung der in die Versuchstiere eingebauten Aktivitätsmenge erfolgte 24 Stunden nach Infusionsende, wenn die im Kreislauf bzw. in den ableitenden Harnwegen befindliche Aktivität ausgeschieden war. Ebenfalls war zu diesem Zeitpunkt das Fell der Tiere durch ein Bad weitgehend dekontaminiert worden. Die tumortragenden Tiere wiesen gegenüber den nicht tumortragenden MNI-Kontrollen einen Mehreinbau von 33,4% auf. Ein ähnlicher Faktor wurde auch von Kronenberger 1977 gefunden (58). Absolut betrug die Ganzkörperaktivität am Ende der 10-Tage-Infusion bei den MTI durchschnittlich $1,025 \mu\text{Ci}$ ($\sigma_{\bar{x}} = 0,08$), bei den MNI $0,77 \mu\text{Ci}$ ($\sigma_{\bar{x}} = 0,09$). Beim Abfall der Ganzkörperaktivität (siehe Abb. 14), die nach Korrektur der Zellverlustrate durch Zelltod entspricht, ist in beiden Tiergruppen bis zum 10. Tag nach Infusionsende ein steilerer Aktivitätsverlust zu verzeichnen als nach Tag 10. Eine entsprechende Mehrphasigkeit im Aktivitätsabfall zeigte sich auch in den Versuchen Kronenbergers (57, 58), wobei dieses Phänomen auf Verluste aus Zellpopulationen unterschiedlicher Lebensdauer bzw. Generationszeiten zurückzuführen ist. Bei den MNI-Tieren ist über den gesamten Versuchszeitraum der Aktivitätsverlust höher als bei den MTI-Tieren. Die biologische Halbwertszeit in diesen ersten 10 Tagen beträgt für MTI 15 Tage und für MNI 8 Tage. In dieser Zeit ist die Zellverlustrate der Kontrollen also nahezu doppelt so hoch wie die der Tumorträger. Nach dem 10. Tag verlaufen beide Kurven flacher, jedoch liegt auch hier der Zellverlust der Kontrollen weiterhin noch deutlich über dem der MTI-Tiere. Auch hier konnte Kronenberger gleichartige Ergebnisse erzielen, die sich durch das tumorinduzierte Auftreten langlebiger Zellpopulationen erklären lassen.

5. Tumoraktivität

Für die Bestimmung der Tumoraktivität wurden die Tumoren der Infusionstiere an den entsprechenden Meßtagen aus den getöteten Mäusen exzidiert und vermessen. Es wurde nach entsprechender Korrektur die spezifische Tumoraktivität in pCi pro g Tumormasse als Betrachtungskriterium gewählt. Entsprechend der

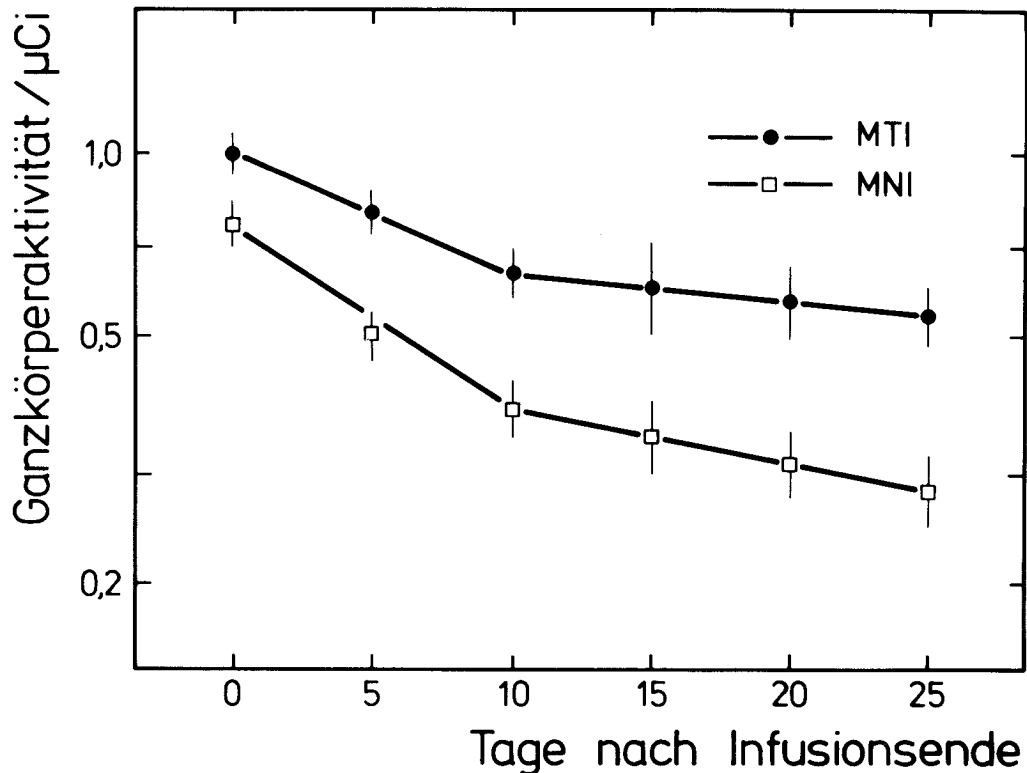


Abb. 14: Ganzkörperaktivitätsabfall aller MTI und MNI, mit Standardfehlern

Abb. 15 zeigt sich über den Beobachtungszeitraum ein rascher exponentieller Abfall der Aktivität bzw. des Zellverlustes. Die Halbwertszeit des Tumoraktivitätsverlustes beträgt etwa 2 Tage, liegt also wesentlich unter den Werten der Ganzkörperaktivität. Verdeutlicht ist dieser Unterschied in Abb. 16, bei der der Quotient aus spezifischer Tumoraktivität und spezifischer Ganzkörperaktivität zur Beobachtungszeit aufgetragen ist. Der anfänglich höhere Einbau wird bereits nach 1,8 Tagen kompensiert, fällt weiter deutlich ab und nähert sich asymptotisch der Nulllinie.

6. Körpergewichte

Die in Abb. 17 dargestellten Körpergewichtszunahmen der MTI- und MTK-Tiere zeigen einen weitgehend parallelen Anstieg, wobei die MTK-Mäuse erwartungsgemäß wegen der größeren Tumoren über den MTI-Mäusen liegen. Die Betrachtung der Körpergewichte

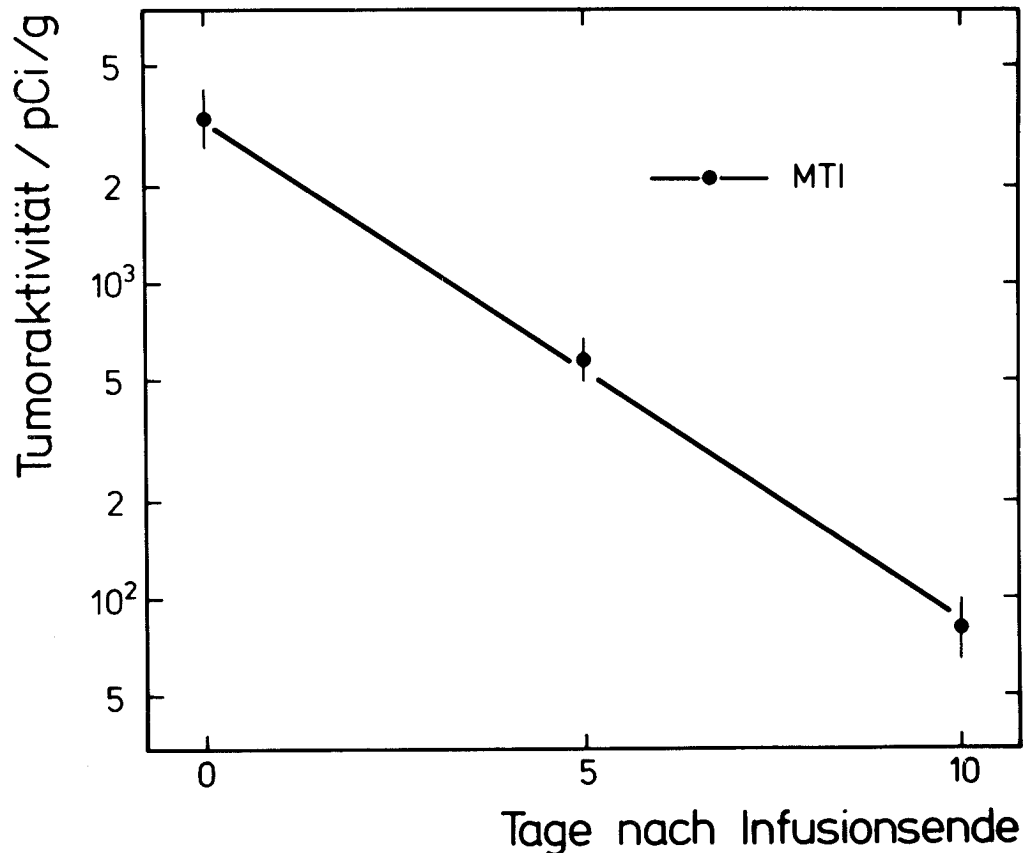


Abb. 15: Tumoraktivitätsabfall mit Standardfehlern

inklusive der Tumoren ist jedoch nicht so interessant wie der Kurvenverlauf, der sich ergibt, wenn die jeweilige Tumormasse vom Körpergewicht subtrahiert wird. Dies ist in Abb. 18 geschehen.

Es zeigt sich nunmehr kein Unterschied zwischen MTI und MTK, und auch der jetzt mögliche Vergleich mit den (nichttumortragenden) NMI-Mäusen zeigt keine wesentlichen Differenzen. Insgesamt steigt das Netto-Gewicht aller Tiergruppen etwa gleichmäßig an, entsprechend der normalen Gewichtszunahme der bei Versuchsbeginn ca. 3 Monate alten Tiere.

Der Anstieg der Tumormasse in Prozent vom jeweiligen Körpergewicht ist in Abb. 19 veranschaulicht. Hier zeigt sich, daß die Tumormasse am 25. Tag nach dem Infusionsende bei den MTK-Mäusen 23,4% des Körpergewichtes ausmacht. Der entsprechende MTI-Wert beträgt 19,8%. Direkt nach der Infusion be-

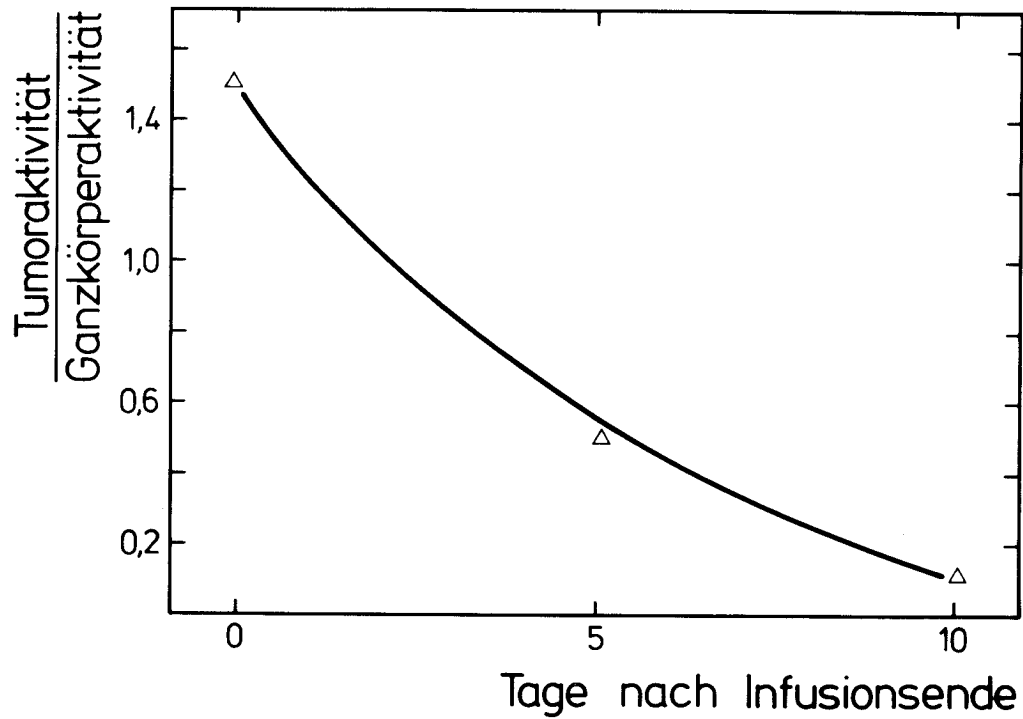


Abb. 16: Relativer Aktivitätsverlust des Tumors gegenüber dem Ganzkörper.

trägt das Prozentverhältnis 11,4% (MTK) zu 8,7% (MTI). Über den Beobachtungszeitraum von 25 Tagen hat die Tumormasse in beiden Gruppen gleichförmig von etwa einem Zehntel des Körpergewichts auf fast ein Viertel zugenommen.

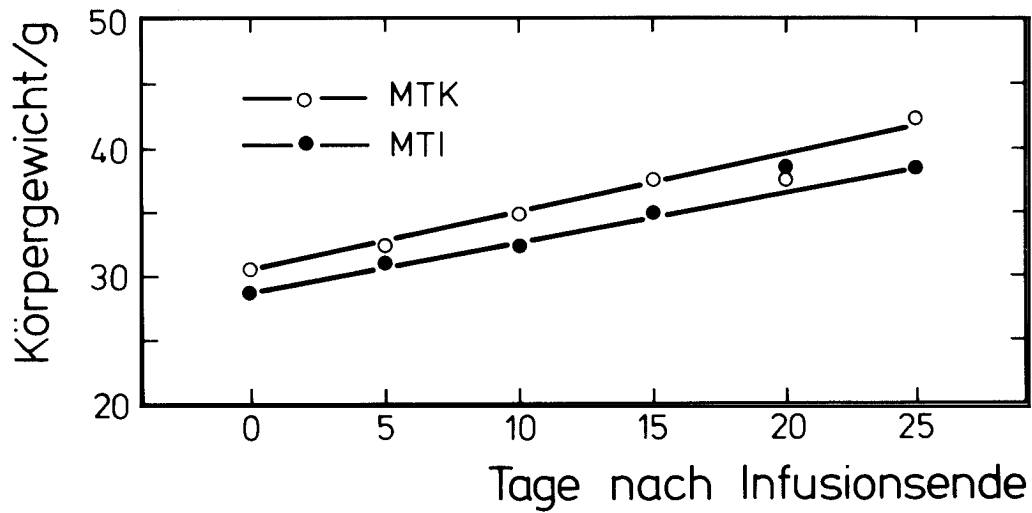


Abb. 17: Körpergewichte aller MTI und MTK

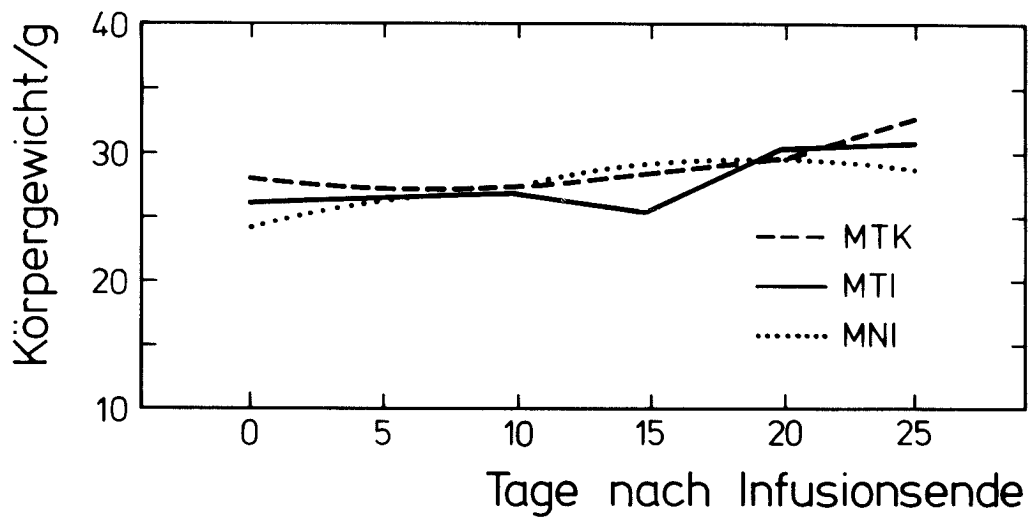


Abb. 18: Körpergewicht aller MTI (-Tu), MTK (-Tu) und MNI

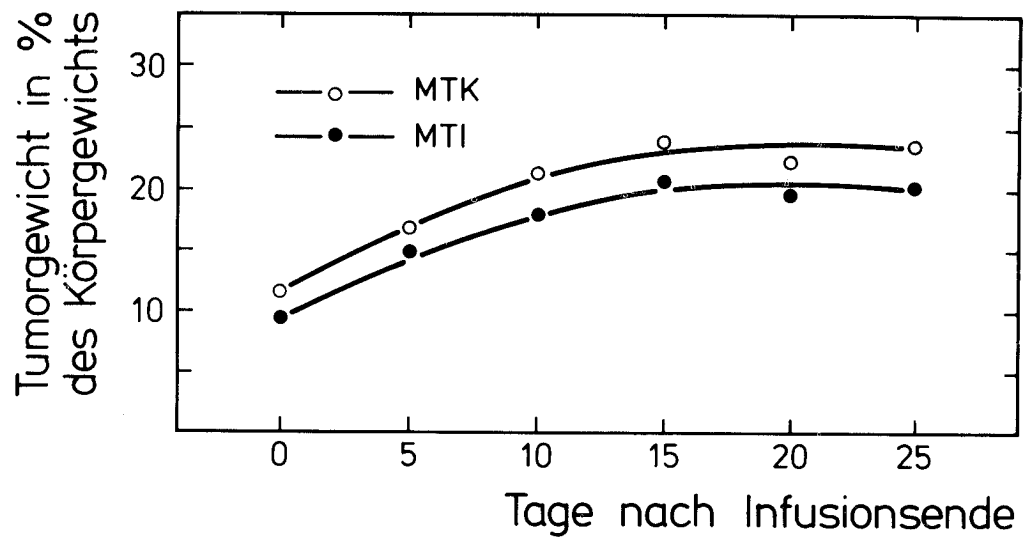


Abb. 19: Prozentualer Anteil des Tumorgewichtes vom Ganzkörpergewicht

V DISKUSSION

Das Ziel der Arbeit war die Untersuchung der Auswirkung einer intravenösen $^{125}\text{JUdR}$ -Langzeitinfusion auf das Wachstum des soliden Experimentaltumors Sarkom 180 bei der Maus. Dazu war es zunächst nötig, eine Infusionseinrichtung zu schaffen, die den vorne genannten Kriterien gerecht wird. Dieses Ziel kann als erreicht betrachtet werden, da sich mit der beschriebenen Infusionsapparatur mittlerweile auch Langzeitinfusionen bis zu 20 Tagen problemlos realisieren lassen (F.H.A.Schneeweiß, Inst.f.Medizin, KFA Jülich). Die in den Langzeitinfusionen befindlichen nichttumortragenden Mäuse zeigten nach der Infusion und in den darauf folgenden Monaten keine Auffälligkeiten und keine erhöhte Sterberate gegenüber nichtinfundierten Mäusen. Die Reduzierung der Streßbelastung gegenüber anderen Infusionssystemen mit z.B. subcutaner Applikationsform (62) oder immobilisierender Fixation kann hierbei als erfolgreich angesehen werden.

Die mit dem Infusionssystem bei den zu Grunde gelegten Versuchsparametern erzielten Aktivitätseinbauraten von etwa 1% entsprechen den Erwartungen, wenn die bei Pulsapplikation von $^{125}\text{JUdR}$ von Kronenberger gewonnenen Erkenntnisse über den prozentualen Einbau in die DNA sowie den $^{125}\text{JUdR}$ -Umsatz im Organismus auf die Langzeitinfusion übertragen werden. Es ist möglich, die drei zusammenhängenden Vorgänge von Infusion mit intrazellulärem Einbau von $^{125}\text{JUdR}$, Zelltod mit Abbau und Ausscheidung von $^{125}\text{JUdR}$ sowie den kernphysikalischen Zerfall von ^{125}J in einem mathematischen Modell zu erfassen. Zur Berechnung der zum Zeitpunkt t der Langzeitinfusion zu erwartenden in den Organismus eingebauten Aktivitätsmenge kann man die Abwandlung des Zerfallsgesetzes (69)

$$N_t = N_o e^{-\lambda t}$$

auf den Zerfall einer Muttersubstanz in eine Tochtersubstanz, welche wiederum in eine zweite Tochter zerfällt, anwenden. Für den ersten Teil der Gleichung muß gelten, daß die Nacherzeu-

gung aus der primären Muttersubstanz pro Zeiteinheit konstant ist, da in den Versuchen über den Infusionszeitraum die Aktivität gleichmäßig angeboten und mit 5%, d.h. mit $q = 0.5 \mu\text{Ci}$, pro Tag eingebaut wird. Der durch Stoffwechselvorgänge und Zellzerfall hervorgerufene Ganzkörper-Aktivitätsverlust wurde mit 30% täglich ermittelt (57, 58). Das entspricht einer Halbwertszeit von 2 Tagen bzw. einer Zerfallskonstanten von $\lambda_1 = 0.346$. Für die Anfangsbedingung $N_0 = 0$ gilt somit

$$N_1(t) = \frac{q}{\lambda_1} (1 - e^{-\lambda_1 t}).$$

Da auch hinsichtlich des Zerfalls von ^{125}Jod korrigiert werden muß, nehmen wir den weiteren Zerfall in eine zweite Tochter mit der Halbwertszeit von 60 Tagen, d.h. $\lambda_2 = 0.0155$, an - jetzt jedoch nicht mehr für konstante Nacherzeugung. Pro Zeiteinheit wird die Aktivitätsmenge

$$q(t) = \frac{d N_1(t)}{d(t)} = N_1' = q e^{-\lambda_1 t}$$

gebildet, welche nach λ_2 weiter zerfällt.

Hierfür gilt

$$N_2'(t) = q(t) - \lambda_2 N_2(t).$$

Nach Auflösung der Differentialgleichung ergibt sich

$$\begin{aligned} N_2(t) &= \frac{q}{\lambda_2 - \lambda_1} (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}) \\ &= \frac{q}{\lambda_2 - \lambda_1} (e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t} - 1) e^{-\lambda_2 t}. \end{aligned}$$

Im vorliegenden Fall ist λ_2 viel kleiner als λ_1 , so daß in erster Näherung gilt:

$$N_2(t) = \frac{q}{\lambda_1} (1 - e^{-\lambda_1 t}) e^{-\lambda_2 t}.$$

Das Ergebnis nach dieser Formel ergibt für den Tag $t = 10$ eine Aktivitätsmenge $N_2 = 1.24 \mu\text{Ci}$, welche mit der mittleren gemessenen Aktivitätsmenge der MTI von $1.025 \mu\text{Ci}$ gut übereinstimmt. Die Diskrepanz zwischen MTI-Mäusen und MNI-Kontrollen, welche im Mittel nur $0.77 \mu\text{Ci}$ eingebaut haben, müßte sich demzufolge aus einer niedrigeren Einbaurrate als 5% und/oder aus einem höher als 30% liegenden Zellumsatz ergeben. Es ist jedoch kein Grund erkennbar, warum der Zellverlust in nichttumortragenden Mäusen größer sein sollte als in tumortragenden. Eher ist das umgekehrte Verhalten durch die Zellverlustrate im Tumorgewebe zu erwarten. Hier zeigen die Aktivitätsverlustkurven (Abb. 14) jedoch eindeutig einen geringeren Zellumsatz bei den MTI-Mäusen. Eine mögliche Erklärung wäre, daß bei den MTI das tumorassoziierte Immunsystem zu Beginn der Infusion maximal aktiviert wurde, wobei verschiedene Proliferationsreihen mit unterschiedlicher Lebensdauer auftraten. Hinweise für die zentrale Rolle des Retikuloendothelialen Systems (RES) mit seinen beiden Hauptträgern Leber und Milz bei der Tumorabwehr konnten in vorausgegangenen Experimenten gefunden werden (1, 57, 58, 70). Diese erhöhte Proliferation ist sicher mitverantwortlich für den Mehreinbau der Tumorträger gegenüber MNI. Nachdem der Anteil der kurzlebigen Zellen des RES erschöpft ist, bleibt am Ende der Infusion der Anteil langlebiger Zellen mit hochgradigem Aktivitätseinbau zurück. Bei den MNI kommt es zu keiner Verschiebung des Verhältnisses zwischen lang- und kurzlebigen Zellen bzw. zu keiner Erschöpfung, so daß nach der Infusion der raschere Aktivitätsabfall aus dem Verlust der noch vorhandenen kurzlebigen RES-Population resultiert.

Zur Klärung dieser These müssen noch detaillierte Untersuchungen der spezifisch proliferierenden Organe und Zellsysteme vorgenommen werden. Teilweise neue Erkenntnisse sind von den Aktivitätsmessungen kritischer Organe nach Langzeitinfusion (Röttger) zu erwarten. Besonderes Augenmerk muß dabei dem Knochenmark, dem Dünndarm, der Milz und der Leber ge-

widmet werden. Des weiteren wäre eine vergleichbare Studie mit Tumoren an einem syngenem System interessant, da dabei die tumorinduzierte Proliferationssteigerung des RES vernachlässigt werden kann. Der bei der Tumoraktivität verglichen mit der Ganzkörperaktivität zu beobachtende rasante Aktivitätsabfall (Abb. 16) ist durch Zellnekrosebildung aus Gründen unzureichender Vaskularisierung erklärbar.

Die Untersuchung des Einflusses von $^{125}\text{JUdR}$ auf das Tumorstadium brachte als Ergebnis eine Wachstumsverzögerung von durchschnittlich 26.6% Vol. Diese Retardierung ist sicher auf den zytotoxischen Effekt von $^{125}\text{JUdR}$ zurückzuführen. Die bei Infusionsbeginn vorhandene Tumorzellzahl wird während ihrer Vermehrung in den folgenden Generationszyklen durch den Zerfall der in DNA eingebauten ^{125}J -Atomkerne "relativ" gemindert. Diese Minderung der proliferierenden Population reichte jedoch nicht aus, die Tumoren zu völliger Regression zu bringen. In Einzelfällen konnten Mäuse beobachtet werden, deren weiteres Tumorstadium nach der Infusionsbehandlung zunächst extrem langsam verlief. Etwa zwei Wochen nach Infusionsende nahm die Wachstumsgeschwindigkeit jedoch wieder rasant zu, und die Tiere erreichten ähnlich große Tumoren wie das übrige Kollektiv. Auch war bei diesen Einzelfällen der Letalitätszeitpunkt nicht hinausgeschoben.

Wenn man die Ergebnisse der MTI mit bei Infusionsbeginn 3 Tage alten Tumoren mit den bei Infusionsbeginn 5 Tage alten Tumoren vergleicht, findet man zum jeweiligen Meßtag 0 direkt nach der Infusion bei $\text{MTI}_{(3)}$ deutlich geringere Tumorstadium als bei $\text{MTI}_{(5)}$; normiert auf $\text{MTI}_{(3)}$ entspricht die Differenz etwa 50%. Vergleichbar werden die Kurven jedoch nur, wenn man dem Meßtag 0 der $\text{MTI}_{(5)}$ den Meßtag 2 der $\text{MTI}_{(3)}$ gegenüberstellt, da zu diesem Zeitpunkt beide Tumoren gleich alt sind. In diesem Fall entspricht die Volumendifferenz ca. 17%. Wenn man weiterhin betrachtet, daß die Tumorstadium beider MTI-Gruppen sich am Ende des Beobachtungszeitraumes nahezu angleichen, kann man erkennen, daß die

Wahl des Zeitpunktes für den Infusionsbeginn innerhalb dieser zeitlichen Grenzen keinen entscheidenden Effekt auf das Tumorwachstum zu haben scheint. Die folgende theoretische Überlegung zu dieser Beobachtung ist für die Anfangsphase im Tumorwachstum denkbar, wenngleich eine Reihe weiterer Faktoren das Tumorwachstum bestimmen.

Eine Zellpopulation, die sich von einer konstanten Ausgangszahl gemäß einer Funktion I in der Zeit vermehrt, wird innerhalb eines bestimmten Zeitintervalles durch eine andere Funktion II gemindert, bzw. zu relativ langsamer Vermehrung veranlaßt. Nach Ablauf des Zeitintervalles geschieht die Vermehrung der dann vorhandenen Zellen wieder nach der ursprünglichen Funktion I (Abb. 20). Es zeigt sich nun, daß das Zeitintervall mit Funktion II an beliebiger Stelle in den Zeitablauf der Funktion I eingeschleut werden kann, da die Zellzahl am Ende immer gleich ist. Die Idealbedingung der konstanten Zellvermehrung ist im Tumorsystem wegen des Auftretens von Nekrosen und des vorher nicht abschätzbaren Anteils proliferierender Zellen an den Gesamtzellen nicht gegeben.

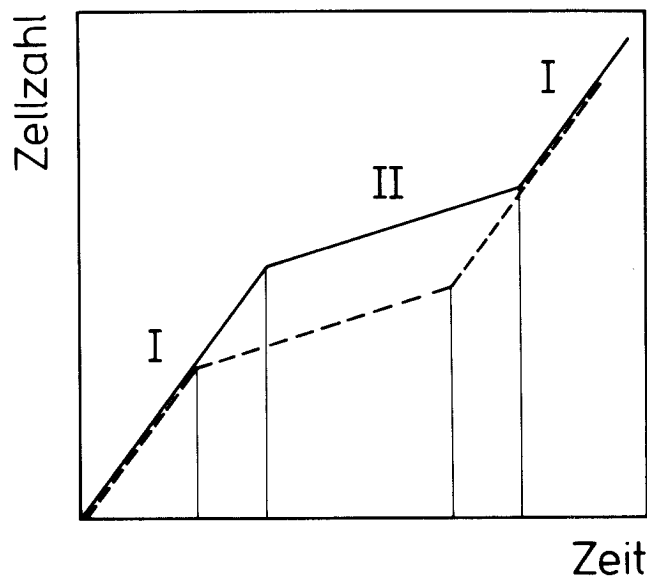


Abb. 20: Einfluß von zwei Funktionen, die unterschiedliche Zeitkonstanten repräsentieren, auf das Tumorwachstum

Um zu klären, welchen Einfluß das Tumoralter bzw. die Tumorzellzahl bei Langzeitinfusionen definitiv auf das Wachstum hat, müßten genauere Untersuchungen zu diesem Problem durchgeführt werden. In diesem Falle wäre ein Tumorsystem mit langsamerem Wachstum dem sehr schnell proliferierenden Sarkom 180 vorzuziehen, da bei Sarkom 180 schon sehr früh mit Nekrosebildung gerechnet werden muß. Die unter den hier zu Grunde gelegten Vermehrungsbedingungen erzielte Wachstumsverzögerung von 26.6 Vol.% könnte durch Änderung der Versuchsparameter eventuell gesteigert werden. Hier wäre zunächst eine spezifische Aktivitätserhöhung und die Verlängerung der Infusionsdauer zu untersuchen.

Ein therapeutischer Effekt kann aus den bisherigen Ergebnissen mit dem Langzeitinfusionssystem mit $^{125}\text{JUdR}$ noch nicht abgelesen werden, da es bei den Infusionstieren zu keiner Lebensverlängerung kam und auch die totale Tumorrogressionsrate der behandelten Tiere nicht über der spontanen Regression der Kontrolltiere lag. Zur weiteren Optimierung der Versuche wäre auf jeden Fall die Untersuchung der $^{125}\text{JUdR}$ -Wirkung in einem syngenem Tumor-Wirts-System zu erwägen, damit unkalkulierbare Abwehrreaktionen eliminiert sind.

VI ZUSAMMENFASSUNG

$^{125}\text{Joddesoxyuridin}$ ($^{125}\text{JUdR}$), ein Thymidinanalogon, kann in die DNA proliferierender Zellen eingebaut werden. Beim Zerfall von ^{125}J werden im Mittel rund 20 meist niederenergetische Auger- und Konversionselektronen emittiert, durch die Zellen mit hoher Wirksamkeit geschädigt werden können. Ferner besteht Grund zur Annahme, daß die zurückbleibenden, nicht kompensierten positiven Ladungen des Tochternuklids ^{125}Te infolge Coulombabstoßung zu einer lokalen Desintegration des Molekülverbandes und damit zu einer erheblichen Verstärkung des Elektroneneffektes führen können.

Die vorliegende Arbeit sollte den therapeutischen Einfluß von $^{125}\text{JUdR}$ auf das Wachstum des soliden Experimentaltumors S-180 der Maus klären. Die zu diesem Zweck geschaffene Apparatur ermöglicht es, den Versuchstieren über einen intravenösen Katheter Infusionslösungen praktisch ohne Zeitlimit zu infundieren. Den weiblichen Albinomäusen (NMRI) wurde jeweils 3 bis 5 Tage vor Infusionsbeginn 0.1 ml einer Tumorzellsuspension mit 3×10^5 Zellen in das rechte Hinterbein injiziert. Die pro Maus applizierte Gesamtaktivität betrug 100 μCi in 10 Tagen. Nach Beendigung der Infusion wurde das Tumolvolumen mit einer Schublehre in zwei Ebenen und der Aktivitätseinbau in einem NaJ(Tl) Ganzkörperzähler für Kleintiere alle 5 Tage bis zum Tod der Tiere gemessen.

Die mittlere Wachstumsverzögerung über die gesamte Meßzeit von 25 Tagen betrug 27 % der Tumorumfänge der Kontrollen. Lebenserwartung und Totalregression der Tumoren waren nicht erhöht. Der Aktivitätseinbau nach Beendigung der Infusion betrug rund 1% der insgesamt injizierten Aktivität. Dies bewies erneut, daß nur 5% des infundierten JUdR initial eingebaut wird und daß in den ersten 10 Tagen ein täglicher Aktivitätsverlust von etwa 30% durch Zelltod erfolgt. Der bei den tumorfreen Kontrollen beobachtete höhere Aktivitätsabfall bzw. Zellverlust gegenüber tumortragenden Tieren könnte auf Erschöpfung der kurzlebigen Zellpopulationen des RES bei den Tumorträgern zurückzuführen sein.

Die während der Experimente erzielten Fortschritte lassen erwarten, daß sich durch eine weitere Optimierung der Versuchsbedingungen und -parameter eine weitere Verbesserung der therapeutischen Wirkung von ^{125}J oddesoxyuridin auf Tumorzellen erzielen lassen würde.

LITERATURVERZEICHNIS

1. R.BASERGA, W.E.Kisieleski:
Cell Proliferating in Tumor Bearing Mice.
Arch. Path. 72, 142 - 148 (1961)
2. J.BECKER:
Kursus: Radiologie und Strahlenschutz.
Springerverlag, 28 (1972)
3. A.C.BEGG:
Kinetic and Histological Changes of a Serially
Transplanted Mouse Tumor.
Cell Tissue Kinet. 4, 401 - 411 (1971)
4. D.BLÖCHER, M.Nüsse, P.E.Bryant:
Kinetics of Double Strand Break Repair in the DNA
of X-irradiated Synchronized Mammalian Cells
(Ehrlich ascites).
Int. J. Radiat. Biol. 43, 579 - 584 (1983)
5. W.D.BLOOMER, S.J.Adelstein:
Therapeutic Application of Iodine-125 Labeled Iodo-
deoxyuridine in an Early Ascites Tumour Model.
Curr. Top. Radiat. Res. Q. 12, 513 - 525 (1977)
6. W.D.BLOOMER, S.J.Adelstein:
5-(¹²⁵I)-Iododeoxyuridine in Experimental Tumor Therapy;
R.Spencer: Therapy in Nuclear Medicine,
Grune/Stratton, 177 - 183 (1978)
7. P.BOSILJANOFF, W.Porschen, W.Piepenbring, H. Mühlen-
siepen, L.E.Feinendegen:
In-vivo-Untersuchungen über die relative Strahlenemp-
findlichkeit hypoxischer Tumorzellen.
Strahlentherapie 153, 178 - 186 (1977)
8. P.BOSILJANOFF:
In-vivo-Untersuchungen über die Strahlensensibilität
oxischer und hypoxischer Zellen im Experimentaltumor
Sarkom 180. Doppelmarkierung mittels 125-Jod und 131-Jod-

desoxyuridin.

Dissertation Universität Düsseldorf, KFA Jülich (1979)

9. M.O.BRADLY, K.W. Kohn:
X-ray Induced DNA Strand Break Production and Repair
in Mammalian Cells as Measured by Neutral Filter Elution.
Nucleic Acid Research 7, 793- 804 (1979)
10. H.J.BURKI, R.Roots, L.E.Feinendegen, V.P.Bond:
Inactivation of Mammalian Cells after Disintegration
of ^3H or ^{125}I in Cell DNA at -196°C .
Int. J. Radiat. Biol. 24, 363 - 379 (1973)
11. S.CATALAND, C. Cohen, L.A.Sapirstein:
Relationship between Size and Perfusion Rate of Trans-
planted Tumors.
J. Natl. Cancer Inst. 29, 389 - 394 (1962)
12. D.E.CHARLTON, J.Booz, J.Fidorra, Th.Smit, L.E.Feinen-
degen:
Microdosimetry of Radioactive Nuclei Incorporated into
the DNA of Mammalian Cells.
6th Sympos. Microdos., Brussels, Eds. J.Booz, H.G.Ebert,
Harwood Acad.Publ.Ltd., EUR 6064, 91 - 110 (1978)
13. J.E.COGGLE:
Biological Effects of Radiation.
Taylor & Francis Ltd., London, 68 (1983)
14. A.D.CONGER:
The Effect of Oxygen on the Radiosensitivity of
Mammalian Cells.
Radiology 66, 63-69 (1956)
15. P.M.CORRY, A.Cole:
Double Strand Rejoining in Mammalian DNA.
Nature 245, 100 - 101 (1973)
16. G.CZIHAK, H.Langer, H.Ziegler:
Biologie, Springer-Verlag, 2. Auflage (1978)
17. J.DENEKAMP, N.H.A.Terry, P.W.Sheldon, A.Chu:
The Effect of Pentobarbital Anaesthesia on the Radio-
sensitivity of Four Mouse Tumors.
Int. J. Radiat. Biol. 35, 277 - 280 (1979)

18. H.DERTINGER, H.Jung:
Molekulare Strahlenbiologie.
Springer-Verlag (1969)
19. L.A.DETHLEFSEN:
Incorporation of 125 -Iodine Labeled 5-Iodo-2-deoxy-
uridine into DNA of Mouse Mammary Tumors.
In: Normal and Malignant Cell Growth.
Springer-Verlag, 186 - 201 (1966)
20. L.A.DETHLEFSEN:
Kinetic and Biochemical Studies on Tumorgrowth.
Comprehensive Progress Report Oct. 1, 1967 - Apr. 1, 1975
Prepared for the U.S. Energy Research and Development
Administration under Contract No. AT (II-1), 2266 (1975)
21. R.DEUTZMANN, G.Stöcklin:
Chemical Effects of Iodine-125 Decay in Aqueous Solution
of 5-Iodouracil. Ring Fragmentation as a Consequence of
the Auger Effect.
Radiat. Res. 87, 24 - 36 (1981)
22. W.C.DEWEY, R.M.Humphry:
Relative Radiosensitivity of Different Phases in the Life
Cycle of L-59 P Mouse Fibroblasts and Ascites Tumor Cells.
Radiat. Res. 16, 503 - 530 (1962)
23. Y.DOIDA, S.Okada:
Synchronisation of L 5178 Y Cells by Successive Treat-
ment with Thymidine and Colcemid.
Exp. Cell Res. 48, 510 - 548 (1967)
24. M.M.ELKIND:
Sublethal Damage and Its Repair in Mammalian Cells.
Radiat. Res., Ed. G. Silini,
North Holland Publ. Co., Amsterdam, 558 (1967)
25. H.H.ERTL:
Dosimetrie und Biologische Wirkung des Auger-Effektes;
Ganzkörpermessungen mit intranuklearem 125 JUdR.
Dissertation Universität Düsseldorf, KFA-Jülich (1970)

26. H.H.ERTL, L.E.Feinendegen, H.J.Heiniger:
Iodine 125, a Tracer in Cell Biology -
Physical Properties and Biological Aspects
Phys. Med. Biol. 15, 447 - 456 (1970)
27. H.H.ERTL, L.E.Feinendegen:
Biological Toxicity of Iodine 125; Contribution from
the Auger Effect.
IV. International Congress of Radiat. Research
Evian (1970)
28. L.E.FEINENDEGEN, H.J.Heiniger, G.Friedrich, E.P.Cronkite:
Differences in Reutilization of Thymidine in Haemopoetic
and Lymphopoetic Tissues of the Normal Mouse.
Cell Tissue Kinet. 6, 564 - 585 (1973)
29. L.E.FEINENDEGEN:
Biological Damage from the Auger Effect. Possible Benefits.
Radiat. and Environm. Biophys. 12, 85-99 (1975)
30. L.E.FEINENDEGEN, V.P.Bond, W.L.Hughes:
125-IUdR in Autoradiographic Studies of Cellproliferation.
Exp. Cell Res. 43, 107 - 119 (1966)
31. L.E.FEINENDEGEN, H.H.Ertl, V.P.Bond:
Biological Toxicity Associated with the Auger Effect.
In: Biophysical Aspects of Radiation Quality, IAEA
Vienna, 419 - 430 (1971)
32. L.E.FEINENDEGEN:
Autoradiographische und biochemische Untersuchungen der
Zellproliferation in vivo. Präoperative Tumorbestrahlung.
Vorträge v. Deutschen Röntgenkongress 1970
Herausgeber O.Hug, Urban-Schwarzenberg München (1971)
33. L.E.FEINENDEGEN, V.P.Bond, W.L.Hughes:
Physiological Thymidine Reutilization in Rat Bone Marrow.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 122, 448 - 455 (1966)
34. J.FIDORRA:
Die Strahlenempfindlichkeit von Säugetierzellen in den
verschiedenen Zyklusphasen und ihre Beziehung zu Erho-
lungsprozessen.
Dissertation, Hamburg (1977)

35. W.FORTH, D.Henschler, W.Hummel:
Pharmakologie und Toxikologie.
Wissenschaftsverlag, 441 - 443 (1975)
36. Ch.FREUNDLIEB:
In-vivo-Verhalten des Thymidinanalogon $^{125}\text{JUdR}$ appliziert
als Bestandteil hydrolysierter bzw. hochpolymerer DNS.
Dissertation Universität Düsseldorf, KFA Jülich (1973)
37. G.FRIEDRICH:
Ein Beitrag zur Quantifizierung des Katabolismus exogener
 $^3\text{H-TdR}$ und $^{125}\text{JUdR}$ doppelmarkierter DNA in Säugetierzellen.
Dissertation Universität Düsseldorf, KFA Jülich (1974)
38. G.GALAVAZI, D.Bootsma:
Synchronisation of Mammalian Cells in vitro by Inhibition
of the DNA Synthesis.
Exp. Cell Res. 41, 438 - 454 (1966)
39. G.GARTZEN:
Biologische Parameter eines kollimierten Zyklotron-
Neutronenstrahls.
Dissertation RWTH Aachen, KFA Jülich (1978)
40. L.GIESEN:
Untersuchungen über das Verhalten transfundierter $^{125}\text{JUdR}$ -
markierter Knochenmarkzellen der Maus.
Dissertation Universität Düsseldorf, KFA Jülich (1970)
41. E.S.GREENWALD:
Cancer Chemotherapy, 2nd.Ed.
Medical Outline Series, Hans Huber Publishers
Bern, Stuttgart, Vienna, 13 - 25 (1973)
42. Handbook on Genetically Standardized Jax Mice.
The Jackson Harbor Laboratory, Bar Harbor, Maine (1969)
43. H.J.HEINIGER, L.E.Feinendegen, G.Friedrich, H.H.Ertl:
Regional Reutilization of Thymidine in the Normal Mouse.
Intern. Bericht KFA Jülich (1970)
44. K.HEMPEL:
Strahlenempfindlichkeit von DNS-Synthese und Mitose im
Harding - Passey - Melanom und im Dünndarm der Maus.
Biophysik 4, 356 - 369 (1968)

45. K.HENRICHS:
Nicht-invasive Untersuchungen zur Wachstumskinetik eines
soliden Experimentaltumors (Sarkom 180).
Dissertation Universität Düsseldorf, KFA Jülich (1978)
46. K.G.HOFER, W.L.Hughes:
Radiotoxicity of Intranuclear Tritium, 125-Iodine and
131-Iodine.
Radiat. Res. 47, 94 - 109 (1971)
47. A.E.HOWES, S.B.Fields:
The Oxygen Effect.
Brit. J. Radiol. 41, 554-555 (1968)
48. O.HUG:
Medizinische Strahlenkunde.
Springer-Verlag (1974)
49. W.L.HUGHES, S.L.Commerford, D.Gitlin, R.C.Krueger,
B.Schultze, V.Shah, P.Reilly:
Deoxyribonucleic Acid Metabolism in vivo: I. Cellpro-
liferation and Death as Measured by Incorporation and
Elimination of Iododeoxyuridine.
Fed. Proc. Chem. Med. 23, 640 - 648 (1964)
50. W.L.HUGHES, K.G.Hofer, W.Prensky:
Radiotoxicity of Intracellular Decay of 125-Iodine.
IV. Intern. Congress of Radiat. Res., Evian (1970)
51. G.KLOSS:
Nuklearmedizinische Propädeutik.
Med. Verlagsgesellschaft Marburg (1978)
52. R.E.KRISCH:
Jahresbericht Argonne National Laboratory
Abstract Annual Biophysical Society Meeting
Los Angeles (1969)
53. R.E.KRISCH, R.D.Ley:
Induction of Lethality and DNA Breakage by the Decay
of Iodine-125 in Bacteriophage T4.
Int. J. Radiat. Biol. 25, 21 - 30 (1974)

54. R.E.KRISCH:
Lethal Effects of Iodine-125 Decay by Electron Capture
in Escherichia coli and in Bacteriophage T1.
Int. J. Radiat. Biol. 21, 167 - 189 (1972)
55. R.E.KRISCH, C.J.Sauri:
Further Studies of DNA Damage and Lethality from the
Decay of Iodine-125 in Bacteriophages.
Int. J. Radiat. Biol. 27, 553 - 560 (1975)
56. R.E.KRISCH, D.M.Darby:
DNA Breakage and Repair Following Iodine-125 Decay in
E. coli.
Radiat. Res. 67, 574 (1976)
57. P.H.KRONENBERGER, W.Porschen, L.E.Feinendegen:
DNA-Umsatz im Ganzkörper tumortragender Mäuse.
Beitr. Path. 156, 368 - 412 (1976)
58. P.H.KRONENBERGER, G.Tisljar-Lentulis, W.Porschen,
L.E.Feinendegen:
DNA-Umsatz in metastasenfremen Organen tumortragender
Mäuse; Einfluß auf Ganzkörpermessungen mit ^{125}JdR .
Beitr. Path. 160, 154 - 174 (1977)
59. P.H.KRONENBERGER, G.Tisljar-Lentulis, W.Porschen,
L.E.Feinendegen:
Externe Messung der Leberaktivität von tumortragenden
Mäusen nach Injektion eines markierten DNA-Vorläufers.
Nuklearmedizin und Biokybernetik 2, 204 - 207 (1978)
60. G.KUSCHINSKY, H.Lüllmann:
Pharmakologie und Toxikologie:
Georg-Thieme-Verlag Stuttgart, 223 (1976)
61. C.S.LANGE:
The Repair of a DNA Double-Strand Break in Mammalian
Cells and the Organisation of the DNA in their Chro-
mosomes.
In: Molecular Mechanisms for Repair of DNA, Part B,
(Ed. P.C.Hanawalt), 667 - 683 (1975)
62. S.S.LEE, B.C.Giovanella, J.S.Stehlin, J.C.Brunn:
Regression of Human Tumors Established in Nude Mice
after Continuous Infusion of Thymidine.
Cancer Res. 39, 2928 - 2933 (1979)

63. U.LINZ:
Chemische und biologische Folgen des radioaktiven Zerfalls von Jod-125 in Plasmid-DNA.
Dissertation Universität Köln, KFA Jülich (1983)
64. U.LINZ, G.Stöcklin:
Chemical and Biological Consequences of the Radioactive Decay of Iodine-125 in Plasmid DNA.
Radiat. Res. 101, 262 - 278 (1985)
65. J.B.LITTLE:
Repair of Sublethal and Potentially Lethal Radiation Damage in Plateau Phase Cultures of Human Cells.
Nature 224, 804-806 (1969)
66. H.MAASS, K.D.Schulze:
Untersuchungen über die unterschiedliche Strahlenempfindlichkeit der verschiedenen Phasen des Generationszyklus von Tumorzellen.
Strahlentherapie 135, 306 - 319 (1968)
67. R.E.MADDEN, D.Burk:
Production of Viable Single Cell Suspensions from Solid Tumors.
J. Natl. Cancer Inst. 27, 841 - 861 (1961)
68. R.F.MARTIN, W.A.Haseltine:
Range of Radiochemical Damage to DNA with Decay of Iodine-125.
Science 213, 896 - 898 (1981)
69. S.MEYER, E.Schweidler:
Radioaktivität.
Teubner Verlag, Leipzig, Berlin, 32 - 49 (1916)
70. W.W.MORGAN, I.L.Cameron:
Effect of Fast-Growing Transplantable Hepatoma on Cell Proliferation in Host Tissue of the Mouse.
Cancer Res. 13, 441 - 448 (1973)
71. H.MÜHLENSIEPEN, W.Porschen:
Untersuchungen der zellkinetischen Parameter beim soliden Experimentaltumor Sarkom 180.
Persönliche Mitteilungen, IME, KFA Jülich (1976)

72. B.NISHIOKA:
Proliferation Kinetics of Sarkoma 180.
GANN 61, 563 - 568 (1970)
73. W.PITTNER:
Strahlenempfindlichkeit in Abhängigkeit vom Zellzyklus.
Dissertation Universität Düsseldorf, KFA Jülich (1971)
74. R.PORSCHEN:
Zellkinetische Untersuchungen in vitalen und nekrotischen
Tumorbereichen. Anwendbarkeit der Verlustratenmessung
mit $^{125}\text{JUdR}$.
Dissertation Universität Düsseldorf, KFA Jülich (1981)
75. W.PORSCHEN, L.E.Feinendegen:
In-vivo-Bestimmungen der Zellverlustrate bei Experimen-
taltumoren mit markiertem Joddesoxyuridin.
Strahlentherapie 137, 718 - 723 (1969)
76. F.REGLER:
Einführung in die Physik der Röntgen- und Gammastrahlen.
Verlag Karl Thiemig KG, München, 63 - 64 (1967)
77. H.J.RÖTTGER:
Untersuchungen der Retention von $^{125}\text{-Jod}$ nach Langzeit-
infusion von $^{125}\text{JUdR}$ in kritischen Organen bei gesunden
und solide Experimentaltumoren tragenden Mäusen.
Dissertation Universität Düsseldorf, KFA Jülich (1987)
78. R.ROOTS, L.E.Feinendegen, V.P.Bond:
Comparative Radiotoxicity of $^3\text{H-IUdR}$ and $^{125}\text{IUdR}$ after
Incorporation into DNA of Cultured Mammalian Cells.
Proc. 3rd Sympos. Microdos., Stresa, Ed. H.G. Ebert
EUR 4810, 371 - 388 (1971)
79. K.SAKAI, S.Okada:
Radiation-induced DNA Damage and Cellular Lethality
in Cultured Mammalian Cells (L5178Y).
Radiat. Res. 98, 479 - 490 (1984)
80. A.SCHMIDT, G.Hotz:
The Occurrence of Double-Strand Breaks in Coliphage
T1-DNA by Iodine-125 Decay.
Int. J. Radiat. Biol. 24, 307 - 313 (1975)

81. B.SHOHAT, H.Joshua:
Host Defence Mechanism in the Spontaneous Regression
of Sarkoma 180.
Cancer 5, 66 - 75 (1969)
82. M.SIEGERS:
Einfluß von Thymidin auf den Einbau von 5-Jodo-2-Desoxy-
uridin in der Gesamtmaus.
Dissertation Universität Düsseldorf, KFA Jülich (1971)
83. L.SIMPSON-HERREN, H.H.Lloyd:
Kinetic Parameters and Growth Curves for Experimental
Tumor Systems.
Canc. Chemoth. Rep. 54, 143-152 (1970)
84. L.SIMPSON-HERREN, J.C.Blow:
The Mitotic Cycle of Sarkoma 180.
Cancer Res. 28, 724 - 726 (1968)
85. G.G.STEEL:
The Cell Cycle in Tumors: An Examination of Data
Gained by the Technique of Labeled Mitosis.
Cell Tissue Kinet. 5, 87 - 100 (1972)
86. G.G.STEEL:
Cell Loss from Experimental Tumours.
Cell Tissue Kinet. 1, 193 - 207 (1968)
87. G.G.STEEL, K.Adams, J.C. Banett:
Analysis of the Cell Population Kinetics of Trans-
planted Tumors of Widely Differing Growth Rate.
Brit. J. Cancer 20, 748 - 800 (1966)
88. I.F.TANNOCK:
The Relation between Cell Proliferation and Vascular
System in a Transplanted Mouse Mammary Tumor.
Brit. J. Cancer 22, 258 - 273 (1968)
89. I.F.TANNOCK:
Oxygen Diffusion and Distribution of Cellular
Radiosensitivity in Tumors.
Brit. J. Radiol. 45, 515 - 524 (1972)

90. G.TISLJAR-LENTULIS:
Effect of Oxygen on the Yields of DNA Strand Breaks.
Persönliche Mitteilung an P.D.Holt, England, (1981)
91. G.TISLJAR-LENTULIS, P.H.Kronenberger, L.E.Feinendegen:
Persönliche Mitteilungen, KFA Jülich (1979 - 1985)
92. G.TISLJAR-LENTULIS, P.Henneberg, Th.Mielke, L.E.Feinen-
degen:
The Oxygen Effect in Cultured Human Kidney Cells Exposed
to ^{125}I and ^3H Incorporated in DNA.
7th Sympos. Microdos. Oxford, Eds. J.Booz, H.G.Ebert,
H.D.Hartfiel, Harwood Acad. Publ., EUR 7147, 1013 - 1032
(1980)
93. G.TISLJAR-LENTULIS, F.H.A.Schneeweiss, D.Wermelskirchen,
L.E.Feinendegen:
The Oxygen Enhancement Ratio of ^3H and ^{60}Co Gamma Rays
in Human T1-Cells.
Radiation Protection, Eds. J.Booz, H.G.Ebert, EUR 8395,
787 - 795 (1983)
94. G.TISLJAR-LENTULIS, P.Henneberg, Th.Mielke, L.E.Feinen-
degen:
DNA Strand Breaks Induced by ^{125}I -Iodine in Cultured
Human Kidney Cells and their Repair.
6th Sympos. Microdos, Brussels, Harwood Acad.Publ.,
EUR 6064, 111 - 120 (1978)
95. K.R.TROTT:
Strahlenwirkung auf die Vermehrung von Säugetierzellen.
Handbuch der med. Radiologie. Bergmann-Verlag München
II/3, 43-125 (1972)
96. D.WERMELSKIRCHEN:
Beitrag zur Untersuchung über Doppelstrangbrüche der
DNA nach Gammabestrahlung menschlicher Nieren T-Zellen
(Dosiswirkungsbeziehung, Reparatur).
Interner Bericht KFA Jülich (1981)
97. S.WEXLER:
Destruction of Molecules by Nuclear Transformation.
Science 156, 901 - 907 (1967)

98. P.A.ZAHL, Ph.D. and M.C.Drasher:

Distribution and Growth Potency of Cells in a Transplantable Sarkoma.

Cancer Res. 7, 658 - 666 (1947)

99. N.ZAMBOGLOU:

Strahleninduzierte Depression der Einbaurrate vom markierten DNA-Vorläufer ^{125}JdR bei Knochenmarkzellen als biologischer Indikator für die absorbierte Energiedosis für Ganzkörperbestrahlung.

Dissertation Universität Düsseldorf, KFA Jülich (1977)

Danksagungen

Herrn Prof. Dr. med. L.E. Feinendegen, Direktor des Institutes für Medizin der Kernforschungsanlage Jülich, möchte ich herzlich für die Themenstellung und die Möglichkeit, in seinem Institut zu arbeiten, danken.

Herrn Dr. G. Tisljar gilt mein Dank für die stete Bereitschaft, alle auftretenden Probleme und Diskussionspunkte im Rahmen der Dissertationserstellung zu erörtern.

Ebenso danke ich Herrn P. Henneberg und Herrn H.J. Röttger, die bei der Durchführung der Versuche große Hilfsbereitschaft erwiesen, sowie Herrn W. Baumbach für die Hilfe bei der Überprüfung mathematischer Probleme.