

**Aus der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. med. E. Dühmke**

**Vergleich der Wirkung verschiedener radioadaptiver Dosen  
auf HCV29- und RT4-Zellen**

**Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

**vorgelegt von**

**Silke Birgit Schwarz**

**aus**

**München**

**2005**

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

<b>1. Berichterstatter:</b>	<b>Prof. Dr. E. Dühmke</b>
<b>2. Berichterstatter:</b>	<b>Priv. Doz. J. Kummermehr</b>
<b>Mitberichterstatter:</b>	<b>Priv. Doz. Dr. U. G. Mueller-Lisse</b>
	<b>Prof. Dr. K. Hahn</b>
	<b>Prof. Dr. J. Müller-Höcker</b>
<b>Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:</b>	<b>Priv. Doz. Dr. M. Schaffer</b>
<b>Dekan:</b>	<b>Prof. Dr. D. Reinhardt</b>
<b>Tag der mündlichen Prüfung:</b>	<b>06.10.2005</b>

# Gliederung

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	1
<b>2</b>	<b>Fragestellungen</b> .....	5
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	6
<b>3.1</b>	<b>Material</b> .....	6
<b>3.1.1</b>	<b>Chemikalien</b> .....	6
<b>3.1.2</b>	<b>Geräte</b> .....	7
<b>3.1.3</b>	<b>Zubehör</b> .....	8
<b>3.2</b>	<b>Methoden</b> .....	9
<b>3.2.1</b>	<b>Zellkultur</b> .....	9
<b>3.2.1.1</b>	<b>Verwendete Zellen</b> .....	9
<b>3.2.1.2</b>	<b>Kulturbedingungen</b> .....	10
<b>3.2.1.3</b>	<b>Umsetzen und Ausimpfen der Zellen</b> .....	11
<b>3.2.2</b>	<b>Bestrahlung und Dosimetrie</b> .....	12
<b>3.2.3</b>	<b>Experimenteller Ablauf</b> .....	15
<b>3.2.3.1</b>	<b>Versuchskomplexe</b> .....	15
<b>3.2.3.2</b>	<b>Untergruppen der Versuchskomplexe</b> .....	15
<b>3.2.3.3</b>	<b>Versuchsablauf</b> .....	16
<b>3.2.4</b>	<b>Fixieren und Färben der Zellkolonien</b> .....	17
<b>3.2.5</b>	<b>Auswertung und Statistik</b> .....	18
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	20
<b>4.1</b>	<b>Wirkung verschiedener Vorbestrahlungsdosen auf RT4-Zellen</b> .....	20

<b>4.1.1</b>	<b>Wirkung von 0,05Gy Vorbestrahlungsdosis.....</b>	<b>20</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Wirkung von 0,1Gy Vorbestrahlungsdosis.....</b>	<b>22</b>
<b>4.1.3</b>	<b>Wirkung von 0,2Gy Vorbestrahlungsdosis.....</b>	<b>24</b>
<b>4.1.4</b>	<b>Wirkung von 0,5Gy Vorbestrahlungsdosis.....</b>	<b>26</b>
<b>4.2</b>	<b>Wirkung verschiedener Vorbestrahlungsdosen auf HCV29-Zellen.....</b>	<b>28</b>
<b>4.2.1</b>	<b>Wirkung von 0,05Gy Vorbestrahlungsdosis.....</b>	<b>28</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Wirkung von 0,1Gy Vorbestrahlungsdosis.....</b>	<b>30</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Wirkung von 0,2Gy Vorbestrahlungsdosis.....</b>	<b>31</b>
<b>4.2.4</b>	<b>Wirkung von 0,5Gy Vorbestrahlungsdosis.....</b>	<b>32</b>
<b>4.3</b>	<b>Vergleich der Wirkung verschiedener Vorbe- strahlungsdosen auf RT4- und HCV29-Zellen.....</b>	<b>34</b>
<b>4.4</b>	<b>Ergebnisse der Ermittlung der geeigneten Vorbestrahlungsdosis für die Idee eines neuen Therapiekonzeptes zur Urothelkarzinom- bestrahlung.....</b>	<b>36</b>
<b>5</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>38</b>
<b>6</b>	<b>Ausblick.....</b>	<b>46</b>
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>47</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>49</b>
<b>9</b>	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>70</b>
<b>10</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>73</b>

# 1 Einleitung

Hormesis, Hyperradiosensitivität, induzierte Radioresistenz und radioadaptive Antworten sind bekannte Phänomene, die allerdings noch kaum klinisch angewendet werden.

Bei Hormesis handelt es sich um einen stimulierenden oder nützlichen Effekt, der beobachtet wird, wenn ein biologisches System niedrigen Dosen eines Agens (hier: ionisierende Strahlung) ausgesetzt wird, von dem man weiß, dass es in signifikant höheren Dosen toxisch wirkt [109]. Einer initialen Störung der Homöostase durch ein Agens folgt eine z.T. überkompensierende Antwort als biologische Anpassung [25].

Schon 1898 wunderte sich Atkinson darüber, dass bestrahlte Algen schneller wachsen, und schrieb: „The longer my experiments continued, the more mysterious the whole subject seemed.“ [110].

Seit Davey 1919 die Lebensverlängerung des Käfers *Tribolium confusum* durch niedrige Dosen beschrieben hat [38], mehren sich die Berichte über strahlungsinduzierte Langlebigkeit, Wachstums- und Fertilitätssteigerung, Senkung der Mutationsrate und der Krebshäufigkeit sowie über eine Stimulation des Immunsystems [139, 161, 216].

Diese stimulierenden Effekte ionisierender Strahlung traten bei einer Dosis von 0,005-0,5Gy, einer Dosisrate von  $\leq 0,001-0,01\text{Gy/d}$  bei Lebenszeitexposition oder  $\geq 0,05\text{Gy/min}$  bei kurzzeitiger Exposition und einem Linearen Energie Transfer LET von  $\leq 15-20\text{keV}/\mu\text{m}$  auf [131, 214, 216].

Hormesis wird als Ergebnis einer regulierenden Überkorrektur auf niedrige Dosen eines sonst schädlichen Agens gesehen [161] und auf diverse Mechanismen zurückgeführt. Unter anderem vermutet man eine Steigerung der zellulären Abwehr durch Radikalfänger, eine DNS-Reparatur-Beschleunigung durch eine veränderte Chromatinstruktur und die Induktion bzw. Hemmung bestimmter Gene und Proteine, die nicht zuletzt wegen der Kreuzresistenz zu anderen Agenzien an die Hitzeschock-Antwort erinnert, eine Zellzyklusverzögerung, um Zeit für die DNS-Reparatur zu gewinnen, sowie die Einleitung der altruistischen Apoptose und Stimulierung der gesunden Zellen [88, 109, 110, 111, 137, 138, 202, 214, 216].

Während in den Anfangsjahren der Hormeseforschung der stimulierende Effekt ionisierender Strahlung als grundsätzlich nützlich und eine Art Wundermittel angepriesen worden ist, werden viele Ergebnisse heute relativiert, darunter vor allem die vermutete Senkung der Zahl maligner Erkrankungen durch Niedrigdosisbestrahlung [36, 74, 89, 111, 125, 222, 236, 237].

Das Konzept der Hyperradiosensitivität (HRS) und induzierten Radioresistenz (IRR) beschreibt das Phänomen, dass bestimmte Zellen (bakterielle, pflanzliche wie auch menschliche) bei Dosen  $< 0,5\text{Gy}$  besonders empfindlich gegenüber ionisierender Strahlung sind, wohingegen sie bei Dosen von  $0,5\text{-}1\text{Gy}$  je nach Sauerstoffversorgung der Zellen [118] besonders radioresistent sind [80, 116, 121, 150, 189].

Insgesamt wird angenommen, dass dieses System die Existenz eines induzierbaren schützenden Mechanismus (z.B. gesteigerte fehlerfreie Reparatur) reflektiert, der wahrscheinlich durch ein gewisses DNS-Schadenslevel getriggert wird [97, 116, 121] und zellzyklusabhängig ist [149]. Die HRS scheint hierbei v.a. in  $G_2$ -Phase-Zellen ausgeprägt zu sein, wohingegen  $G_1$ - und S-Phase-Zellen radioresistenter sind [188]. Die HRS-Region der Überlebenskurve bei Bestrahlung spiegelt also die Reaktion der Zellen vor der Aktivierung dieses Mechanismus wieder [186] und ist vermutlich durch eine gesteigerte apoptotische Antwort bedingt, die Zellen mit nicht-letalen Mutationen entfernt [121].

Interessanterweise zeigen vor allem radioresistente Zellen eine hyperradiosensitive Reaktion [78, 79, 95, 96, 97, 98, 185, 187, 215, 245], wobei die Beziehung zwischen IRR und intrinsischer Radiosensitivität der Zellen (zelleigener, innerer Strahlenempfindlichkeit) sehr komplex ist [37].

Die Mechanismen der Hyperradiosensitivität und induzierten Radioresistenz sowie der Hormesis sind wahrscheinlich mit denen eines weiteren Phänomens der Bestrahlung mit niedrigen Dosen, der adaptiven Antwort, verwandt [78, 79, 80, 94, 116, 121, 132, 184, 186, 197, 219].

Unter der adaptiven Antwort (adaptive response, AR) versteht man, dass Zellen durch die Vorbehandlung mit einer niedrigen Dosis z.B. ionisierender Strahlung resistenter gegenüber einer höheren Dosis werden, die gewisse Zeit später appliziert wird. Während Hormesis durch eine Niedrig-Dosis-Strahlung alleine ausgelöst wird, benötigt die AR noch zusätzlich eine höhere Dosis, um ihre Wirkung zu entfalten [69].

Die adaptive Antwort wurde zunächst für alkylierende Substanzen beschrieben. So entdeckten 1977 Samson und Cairns für *Escherichia coli* und 1980 Samson und Schwartz für Chinesische Hamster Ovarzellen und humane Hautfibroblasten ein gesteigertes Zellüberleben und eine gesenkte Mutationsrate nach Vorbehandlung, was sie durch eine induzierte, effizientere, fehlerfrei arbeitende Reparatur, die eine de-novo-Proteinsynthese benötigt, erklärten [164, 165].

Die radioadaptive Antwort fiel Olivieri et al. 1984 in menschlichen Lymphozyten auf, die nach Vorbehandlung mit dem  $\beta$ -Strahler [ $^3\text{H}$ ]Thymidin weniger Chromatidaberrationen durch eine Röntgenbestrahlung mit 1,5Gy zeigten [133].

Die AR wird für gewöhnlich durch eine Vorbestrahlungsdosis ionisierender Strahlung im Bereich von 0,005-0,5Gy induziert [6, 20, 176, 182, 237] und lässt sich nicht durch eine zweite Vorbestrahlung potenzieren [6, 40]. Auch die Dosisrate ist entscheidend [31, 158, 181]. Die AR braucht 4-6h zu ihrer Entfaltung [176, 177, 217, 228, 237], kann also erst nach dieser Zeit vor der Wirkung einer großen Folgedosis schützen, und hält dann für mindestens drei Zellzyklen an [177]. Sie schützt in dieser Zeit vor Chromosomenaberrationen, Mutationen, neoplastischen Transformationen und dem Zelltod durch die Folgedosis [4, 228], aber auch vor spontanen neoplastischen Transformationen v.a. genetisch instabiler Zellen [147, 148].

Der Mechanismus der AR beinhaltet die Induktion von Proteinen [14, 160, 249] und Genen [2, 142, 156], die in Signalkaskaden eingreifen [169, 210, 233] und eine fehlerfreie Reparatur ermöglichen [4], und ist sowohl von genetischen Faktoren [7, 20, 171] als auch von physiologischen Parametern [134] abhängig, nicht jedoch davon, ob es sich um gesunde oder Tumorzellen handelt [144]. Die AR konnte in verschiedenen Spezies, verschiedenen Geweben, in vivo und in vitro nachgewiesen werden [23, 234].

Zumal nun weithin akzeptiert ist, dass niedrige Dosen ionisierender Strahlung andere Effekte erzeugen können, als man von hohen Dosen ableiten könnte, ist es nicht verwunderlich, dass man sich diese nicht nur weniger schädlichen, sondern sogar biopositiven Effekte in der Medizin zu Nutzen machen möchte.

Erste Anwendungsmöglichkeiten finden sich in der Niedrigdosisbestrahlung gutartiger Erkrankungen (ca. 0,5Gy/Fraktion bis zu einer Gesamtdosis von 6Gy) und in der Hyper- bzw. Ultrafraktionierung der Radiotherapie (Applikation mehrerer kleinerer Dosen pro Tag).

Bei der Bestrahlung gutartiger Erkrankungen wie z.B. schmerzhafter degenerativer Gelenkerkrankungen nützt man den antiproliferativen, antientzündlichen und immunmodulatorischen Effekt ionisierender Strahlung aus, die die Adhäsion weißer Blutzellen an aktivierte Endothelzellen und die Induktion der Stickstoffmonoxid-Synthetase in aktivierten Makrophagen moduliert [211]. Der inhibitorische Effekt niedriger Strahlendosen auf die iNOS (induzierbare Stickstoffoxidsynthetase) scheint auf translationalen und posttranslationalen Modifikationen zu beruhen, da keine reduzierte mRNS-Expression zu beobachten war [60].

Eine Hyper- / Ultrafraktionierung soll die Hyperradiosensitivität mancher Zellen bei kleinen Dosen ausnützen, ist aber in ihrer Effektivität umstritten [9, 13, 77, 80, 92, 201, 225].

In dieser Arbeit sollte der Effekt verschiedener adaptiver Vorbestrahlungsdosen (0,05-0,5Gy) 4h (Zeitabstand entsprechend der Literatur gewählt [176, 177, 217, 228]) vor der üblichen 2Gy-Fraktion einer Radiatio auf das in-vitro-Modell eines Harnblasenkarzinoms untersucht werden. Hierzu wurden HCV29-(normales Urothel) und RT4-(Harnblasenkarzinom) Zellen bestrahlt und anhand der Ergebnisse eine Arbeitshypothese für zukünftige, klinisch orientierte Experimente abgeleitet. Die Verwendung adaptiver Dosen könnte – so lassen es die Basisexperimente dieser Arbeit vermuten - vielleicht zu einem neuen Radiotherapiekonzept für das Harnblasenkarzinom führen, das die Balance zwischen Tumorkontrolle und Schädigung des normalen Gewebes optimieren könnte.

## 2 Fragestellungen

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden folgende Fragestellungen untersucht:

1. Welche Wirkungen haben adaptive Dosen von 0,05-0,5Gy auf RT4-Zellen (Urothelkarzinomzellen)? Sind Effekte im Sinne einer adaptiven Antwort oder einer Hyperradiosensitivität nachweisbar?
2. Welche Wirkungen haben adaptive Dosen von 0,05-0,5Gy auf HCV29-Zellen (normale Urothelzellen)? Sind Effekte im Sinne einer adaptiven Antwort oder einer Hyperradiosensitivität nachweisbar?
3. Besteht ein Unterschied zwischen den Effekten der adaptiven Dosen auf die beiden Zelllinien und wie ist er geartet?
4. Lässt sich aus den Ergebnissen der Experimente die Idee für ein neues Therapiekonzept zur Urothelkarzinombestrahlung ableiten?

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Material

#### 3.1.1 Chemikalien

Essigsäure (Eisessig) 100%	Merck, Darmstadt
Ethanol 96%, vergällt mit Ethylmethylketon	Apotheke des Klinikums Großhadern, München
Fötales Kälberserum, auf Mykoplasmen und Viren getestet, hitzeinaktiviert	GIBCO BRL Life Technologies, Paisley, Schottland
Grams Kristallviolettlösung	Merck, Darmstadt
Minimum Essential Medium (MEM), mit Earle´s Salzen, 25mM Hydroxyethylpiperazinethansulfonsäure HEPES, ohne L-Glutamin, Cat. No. 32360-026	GIBCO BRL Life Technologies, Paisley, Schottland
Natriumpyruvat, 100mM, Produktnummer S 8636	SIGMA – ALDRICH, Taufkirchen
PBS, Dulbecco´s Phosphate Buffered Saline, ohne Kalzium, Magnesium und Natriumbicarbonat, Cat. No. 14190-094	GIBCO BRL Life Technologies, Paisley, Schottland
Penicillin-Streptomycin, 10 <sup>4</sup> IU Penicillin/ml und 10 <sup>4</sup> µg Streptomycin/ml, Cat. No. 15140-122	GIBCO Invitrogen Corporation, Paisley, Schottland
Rosewell Park Memorial Institute RPMI 1640 Medium, mit GLUTAMAX-I, Cat. No. 61870-010	GIBCO Invitrogen Corporation, Paisley, Schottland
Trypsin–EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure) (10x), Cat. No. 35400-027	GIBCO BRL Life Technologies, Paisley, Schottland

### 3.1.2 Geräte

Bestrahlungsgerät	Müller RT 250	Philips, Hamburg
Brutschrank	Cytoperm 8080	Heraeus, Hanau
Dosimeter	Dosimentor	Physikalisch-Technische Werkstätten Pychlau, Freiburg
Inverses Durchlicht- mikroskop	Telaval 31	Zeiss, Jena
Pipette	Eppendorf Reference 200-1000µl	Eppendorf, Hamburg
Pipette	Eppendorf Research 20-200µl	Eppendorf, Hamburg
Pipettomat	pipetus-akku	Hirschmann, Eberstadt
Sterile Werkbank	Laminair	Heraeus, Hanau
Wärmeplatte	12800	Medax, Kiel
Plexiglaskammer, mit warmem Wasser durchflutet	Eigenkonstruktion	Werkstätte des Klinikums Großhadern, München

### 3.1.3 Zubehör

Erlenmeyerkolben, verschiedene Größen	Brand, Wertheim
Haemocytometer Deckgläser, 20x26mm	Assistent, Sondheim
Multischalen Nunclon, 4 Kammern, rechteckig, 16cm <sup>2</sup> /Kammer, Kat. Nr. 176597	NUNC, Wiesbaden
Pasteurpipetten aus Glas, ca. 150mm	Brand, Wertheim
Pipetten Costar Stripette, steril, 2, 5, 10, 25ml	Corning Incorporated, New York
Pipettenspitzen Eppendorf Standard gelb, 100µl	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen Sarstedt blau, 1000µl	Sarstedt, Nürnberg
Pipettierbirne, 28ml	Merck, Darmstadt
Zählkammer Neubauer improved	Assistent, Sondheim
Zellkulturflaschen mit Filterkappe Nunclon, steril, 25cm <sup>2</sup> , Kat. Nr. 136196	NUNC, Wiesbaden
Zentrifugenröhrchen, steril, 11ml, Kat. Nr. 347759	NUNC, Wiesbaden
Zentrifugenröhrchen, steril, 50ml, Kat. Nr. 373687	NUNC, Wiesbaden

## 3.2 Methoden

### 3.2.1 Zellkultur

#### 3.2.1.1 Verwendete Zellen

Die Versuche wurden an normalen menschlichen Urothelzellen ( HCV29 ) und menschlichen Harnblasenkarzinomzellen ( RT4 ) durchgeführt, die zwar nicht von demselben Patienten stammen, dafür aber etablierte Zelllinien sind.

Die Stammzelle der RT4-Zelllinie leitet sich von einem T<sub>2</sub> , G<sub>1</sub>-Harnblasentumorrezidiv eines männlichen Patienten ab, der zwei Jahre zuvor bereits mit <sup>198</sup>Au-Kügelchen (gold grains) behandelt wurde. Als Kultur wurden die RT4-Zellen bereits 1967 etabliert [123]. Histologisch handelt es sich um ein differenziertes papilläres Karzinom der Harnblase, das sehr radioresistent ist [48, 155].

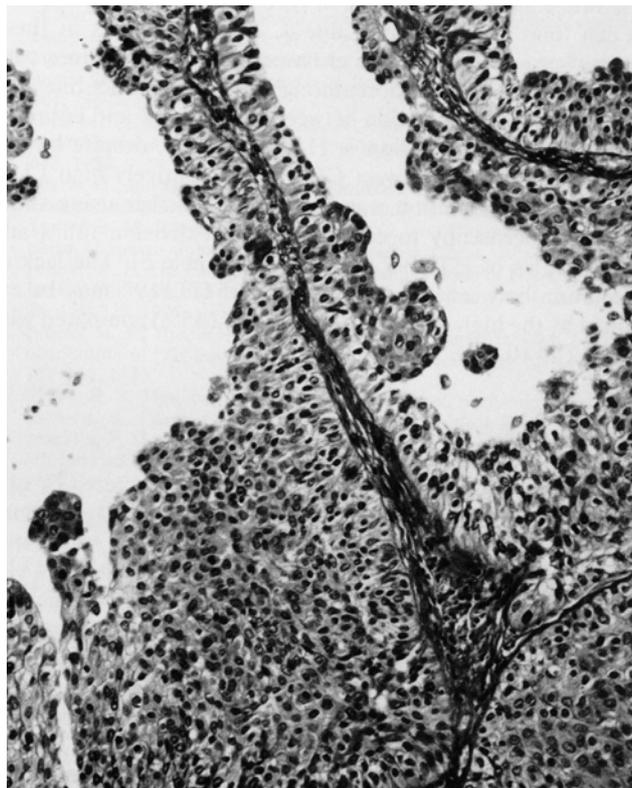


Abb.1: Originaltumorzellen des Patienten mit Harnblasenkarzinom [123]

RT4-Zellen bilden in Kultur kleine, kompakte, mehrschichtig wachsende Kolonien, die sich in Kolonietests sehr gut auszählen lassen.

Bei der HCV29-Kultur handelt es sich um transformiertes, aber nicht malignes Blasenepithel ohne blasentumorspezifisches Antigen, das vor 1974 von einem Patienten mit Harnblasenkarzinom entnommen wurde [8, 123].

In Kultur wachsen HCV29-Zellen in einem Monolayer, einem einschichtigen Zellrasen.

Insgesamt wurden die RT4- und HCV29-Zellen ausgewählt, da sie als ein Beispiel für korrespondierende Zelllinien ein gutes in-vitro-Modell für einen fiktiven Patienten mit einem Harnblasenkarzinom darstellen, bei dem sowohl gesunde als auch karzinomatös veränderte Urothelzellen bestrahlt werden. Die Wirkung von adaptiven Bestrahlungsdosen 4h vor der normalen 2Gy-Fraktion einer regulären Strahlentherapie wurde mit der Wirkung alleiniger 2Gy-Frakturen auf beide Zelllinien verglichen. Mit diesen Versuchen sollte untersucht werden, ob sich daraus eventuell eine Idee für eine effektivere und zugleich das gesunde Gewebe schonende Tumorbestrahlung ableiten lässt.

### **3.2.1.2 Kulturbedingungen**

Sowohl die RT4- als auch die HCV29-Zellen wurden in sterilen Zellkulturflaschen aus Polystyrol mit einer 25cm<sup>2</sup> großen Wachstumsfläche angezüchtet. Jede Kulturflasche war mit 8ml Nährlösung gefüllt. Bei 37°C, ca. 5% CO<sub>2</sub>-Sättigung, ca. 95% Luftfeuchtigkeit und einem pH von 7,4 erfolgte die Inkubation im Brutschrank.

Die Nährlösung wurde, für beide Zelllinien getrennt, aber nach dem gleichen Schema zusammengesetzt:

- 87% RPMI 1640 Medium, mit GLUTAMAX-I
- 10% Fötale Kälberserum
- 1% Natriumpyruvat, 100mM
- 1% Minimum Essential Medium MEM (Eagle), mit Earle`s Salzen, 25mM HEPES, ohne L-Glutamin
- 1% Penicillin-Streptomycin, 10<sup>4</sup> IU Penicillin/ml und 10<sup>4</sup> µg Streptomycin/ml

Diese Nährlösung schaffte optimale Wachstumsbedingungen für die Zellen und minimierte das Risiko einer bakteriellen Infektion der Zellkultur.

### 3.2.1.3 Umsetzen und Ausimpfen der Zellen

Zur Weiterzucht wurden die Zellen unter einer sterilen Werkbank ein- bis zweimal wöchentlich in neue Flaschen mit frischer Nährlösung umgesetzt. Hierbei wurde zunächst die alte Nährlösung abpipettiert und verworfen. Anschließend wurde der Zellrasen in der Flasche mit 5ml PBS gespült, welches dann wieder abgenommen und entsorgt wurde. Nun erfolgte das enzymatische Ablösen der Zellen mit 2ml verdünnter Trypsin-Lösung ( 10% Trypsin, 90% PBS ) bei 37°C auf der Wärmeplatte für 5min. Nach Zugabe von 3ml Nährlösung wurden die Zellen mit Hilfe einer Pipettierbirne vereinzelt. Aus der resultierenden Zellsuspension wurde in Abhängigkeit von der gewünschten Zelldichte in der zu beimpfenden Flasche ein Teil in die neue Kulturflasche pipettiert und anschließend mit 8ml frischer Nährlösung verdünnt. Danach wurde die Inkubation im Brutschrank fortgesetzt.

Für das Ausimpfen der Zellen zu Versuchszwecken wurde die Zelldichte der wie oben gewonnenen Suspension aus den vereinzelt Zellen mit Hilfe einer Neubauer-Zählkammer bestimmt. Hierzu wurde der Mittelwert aus 2x5 Zählfeldern errechnet. Zur Herstellung der Ausimpfsuspension wurden die Zellen dann mit frischer Nährlösung auf  $1 \times 10^4$  Zellen/ml verdünnt. Davon wurden pro Kammer je 20µl auf die Kontrollschalen bzw. je 30µl auf die zu bestrahlenden Schalen pipettiert. Diese 200 bzw. 300 Zellen pro Kammer wurden gewählt, damit sich die entstehenden Kolonien in ihrem Wachstum nicht gegenseitig hemmen und gut auszählbar sind. Zu jeder Kammer wurden noch 4ml Nährlösung gegeben und die Schalen anschließend im Brutschrank inkubiert.

### 3.2.2 Bestrahlung und Dosimetrie

Die Bestrahlungen wurden an der Röntgentherapieanlage Müller RT 250 der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie des Universitätsklinikums Großhadern, München, durchgeführt.

Die Vorbestrahlung mit 0,05; 0,1; 0,2 oder 0,5Gy adaptiver Dosis entspricht den üblichen Versuchsbedingungen bei Experimenten zur adaptiven Antwort [20, 176, 182, 237] und fand unter folgenden Bestrahlungsbedingungen statt:

- Anodenspannung: 225kV
- Stromstärke: 5mA
- Dosisleistung: 0,03Gy/min
- Filter: 0,35mm Kupferfolie
- Tubus: 10cm x 15cm x 40cm
- Fokus-Oberflächen-Abstand FOA: 160cm
- Strahlengang: vertikal, von oben nach unten
- Gleichmäßigkeit der Felddausleuchtung: besser als 97,8%

Hierzu wurden immer vier Zellkulturschalen gleichzeitig entsprechend Abb.2 platziert und anschließend mit der gewünschten Dosis bestrahlt.

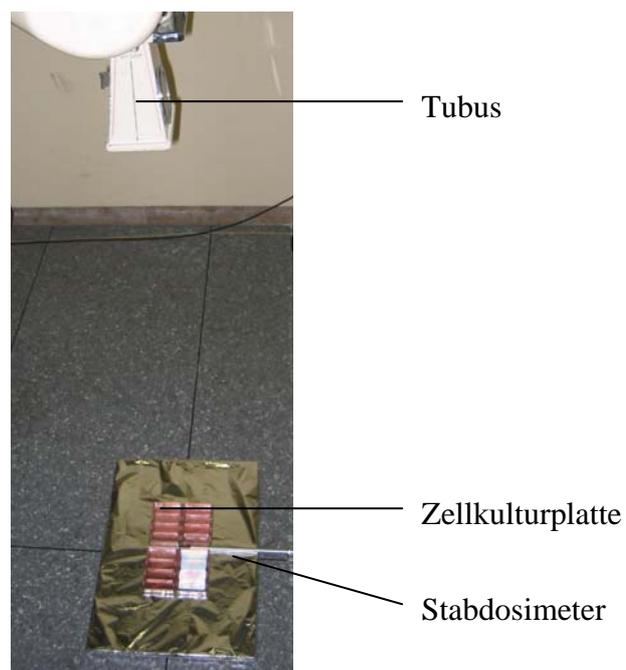


Abb.2: Versuchsaufbau für die Vorbestrahlung

Die Folgedosis von 2Gy (entspricht der Dosis einer Fraktion bei der Radiotherapie eines Harnblasenkarzinoms) erhielten die Zellkulturschalen 4h nach der Vorbestrahlung nacheinander unter dem Versuchsaufbau der Abb.3. Der 4h-Abstand entspricht der Zeitspanne, die eine adaptive Antwort zur Entwicklung braucht [176, 177, 217, 228, 237].

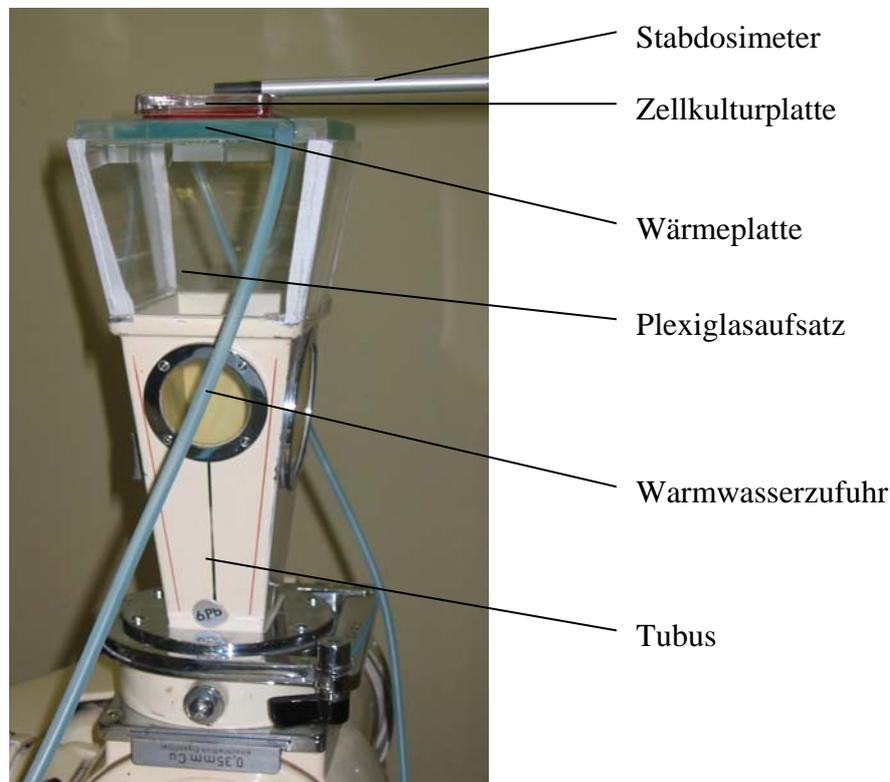


Abb.3: Versuchsaufbau für die Hauptbestrahlung

Damit die Zellen während der Bestrahlung auch bei 37°C gehalten werden konnten, wurden die Platten auf einer mit 37°C – warmen Wasser durchströmten Plexiglaskammer platziert. Die Bestrahlungsbedingungen für diesen Versuchsaufbau lassen sich wie folgt charakterisieren:

- Anodenspannung: 225kV
- Stromstärke: 15mA
- Dosisleistung: 1Gy/min
- Filter: 0,35mm Kupferfolie
- Tubus:10cm x 15cm x 40cm, wobei der handelsübliche Abschluss des Tubusendes durch einen Plexiglasaufsatz mit einer wasserdurchflossenen Wärmeplatte aus Plexiglas ergänzt ist (Dicke der Wasserschicht: 1,5cm)

- Fokus-Oberflächen-Abstand FOA: 51,5cm
- Strahlengang: vertikal, von unten nach oben
- Gleichmäßigkeit der Felddausleuchtung: besser als 97,8%

Die Dosimetrie für alle Versuche wurde mit Hilfe der Abteilung Physik mittels Ionisations- und Thermoluminiszenzdosimetrie durchgeführt und auf den jeweiligen Versuchsaufbau abgestimmt.

### **3.2.3 Experimenteller Ablauf**

#### **3.2.3.1 Versuchskomplexe**

Da sowohl die Wirkung verschiedener adaptiver Dosen 4h vor einer Folgedosis von 2Gy auf die Zellen untersucht als auch der Vergleich zweier Zelllinien (HCV29 und RT4) durchgeführt werden sollte, mussten folgende Versuchskomplexe gebildet werden:

#### **I Wirkung von folgenden adaptiven Dosen auf HCV29–Zellen**

- I.1 0,05Gy Vorbestrahlung + 2Gy Folgedosis
- I.2 0,1Gy Vorbestrahlung + 2Gy Folgedosis
- I.3 0,2Gy Vorbestrahlung + 2Gy Folgedosis
- I.4 0,5Gy Vorbestrahlung + 2Gy Folgedosis

#### **II Wirkung von folgenden adaptiven Dosen auf RT4–Zellen**

- II.1 0,05Gy Vorbestrahlung + 2Gy Folgedosis
- II.2 0,1Gy Vorbestrahlung + 2Gy Folgedosis
- II.3 0,2Gy Vorbestrahlung + 2Gy Folgedosis
- II.4 0,5Gy Vorbestrahlung + 2Gy Folgedosis

#### **3.2.3.2 Untergruppen der Versuchskomplexe**

Innerhalb jedes Versuchskomplexes (I.1–I.4 und II.1–II.4) mussten drei Untergruppen wie folgt gebildet werden:

- A Kontrollschalen
- B Bestrahlte Schalen ohne Vorbestrahlung
- C Bestrahlte Schalen mit Vorbestrahlung

Die Kontrollschalen ( Untergruppe A ) wurden, wie unter 3.2.1.3 beschrieben, mit je 200 Zellen pro Kammer beimpft und die Kolonien nach 10 Tagen ( gerechnet ab Ausimpftag ) gefärbt und gezählt. Diese Schalen wurden nicht bestrahlt und dienten nur als Kontrolle für die Angehrate des jeweiligen Versuchsansatzes. Somit konnte bei der Auswertung das Überleben der Zellen der bestrahlten Schalen auf die Kontrolle bezogen und normiert werden. Dadurch konnten eventuelle systematische Fehler eliminiert werden.

Die Schalen der Untergruppe B wurden mit 300 Zellen/Kammer beimpft und am nächsten Tag mit 2Gy bestrahlt. Sie dienten als Vergleichsgruppe für die Wirkung von 2Gy ohne vorheriger adaptiver Bestrahlungsdosis. Um Versuchsgleichheit zu gewähren, befanden sich auch die Schalen der Untergruppe B außerhalb des Brutschranks, während die Schalen der Untergruppe C vorbestrahlt wurden.

Ebenfalls mit 300 Zellen/Kammer beimpft, wurden die Schalen der Untergruppe C zunächst mit einer adaptiven Dosis von 0,05; 0,1; 0,2 oder 0,5Gy und weiter nach vier Stunden zusammen mit den Schalen der Untergruppe B mit 2Gy bestrahlt. Anhand dieser Schalen sollte die Wirkung der verschiedenen adaptiven Dosen untersucht werden.

### **3.2.3.3 Versuchsablauf**

Nach dem Ausimpfen der Zellen wurden alle Schalen (Untergruppe A, B und C) für 24 Stunden im Brutschrank inkubiert. Daraufhin wurden die Schalen, die vorbestrahlt werden sollten (Untergruppe C), mit der jeweiligen adaptiven Dosis bestrahlt. Nach weiteren vier Stunden erhielten alle Schalen, die bestrahlt werden sollten (Untergruppe B und C), eine Dosis von 2 Gy (entspricht der Dosis einer Bestrahlungsfraktion eines Patienten). Anschließend wurden alle Schalen (Untergruppe A, B und C) für weitere neun Tage im Brutschrank inkubiert, danach gefärbt und schließlich die Kolonien gezählt.

Innerhalb jedes Versuchskomplexes wurden mindestens vier Versuche mit jeweils mindestens acht Parallelkammern pro Untergruppe durchgeführt.

### **3.2.4 Fixieren und Färben der Zellkolonien**

Zum Fixieren der Zellkolonien wurde die Nährlösung von den Schalen abgenommen und verworfen. Die Zellen wurden mit ca. 3ml Fixierlösung (33% Eisessig, 66% Ethanol) pro Kammer für 5min fixiert. Nach dem Verwerfen der Fixierlösung wurden die Zellen mit ca. 3ml verdünnter Kristallviolettlösung (20% Kristallviolett, 80% Wasser) pro Kammer für 30min gefärbt. Anschließend wurde die Färbelösung verworfen und die Schalen noch vorsichtig mit klarem Wasser nachgespült und zum Trocknen an der Luft aufgestellt.

### 3.2.5 Auswertung und Statistik

Die Anzahl der Kolonien pro gefärbte Kammer wurde bei 2,5-facher Vergrößerung unter dem Mikroskop bestimmt. Die Koloniegröße interessierte nur insoweit, dass ausschließlich die Kolonien gezählt wurden, die aus mindestens 50 Zellen bestanden. Koloniegrößeneffekte, wie sie Spadinger et al. beobachteten [204], wurden nicht registriert. Das auf die Kontrollschalen normierte und in den statistischen Berechnungen verwendete Überleben der bestrahlten Kammern wurde mit Hilfe folgender Formel berechnet:

$$\ddot{U}L = \frac{R\ddot{U}_W}{R\ddot{U}_K} = \frac{\frac{\gamma_Y}{300}}{\frac{(K_1 + K_2 + \dots + K_n) : n}{200}}$$

- ÜL: normiertes Überleben der bestrahlten Kammern
- RÜ<sub>W</sub>: relatives Überleben der bestrahlten Kammern
- RÜ<sub>K</sub>: relatives Überleben der Kontrollkammern
- γ<sub>Y</sub>: gezählte Koloniezahl der bestrahlten Kammer
- K<sub>n</sub>: gezählte Koloniezahl einer Kontrollkammer
- n: Anzahl der Kontrollkammern des Versuchsansatzes

Zur Ermittlung der geeigneten Vorbestrahlungsdosis für den Vorschlag eines Therapie-konzeptes zur Optimierung der Harnblasenkarzinombestrahlung mussten die Mittelwerte der vorbestrahlten Untergruppen auf die der nicht vorbestrahlten Untergruppen bezogen werden, um den Fehler der Schwankungen zwischen den Versuchskomplexen zu eliminieren. Die dazu nötigen Dosisvergleichsparameter (DVP) sind mit Hilfe folgender Formel zu errechnen:

$$\frac{\text{Mittelwert des x - Versuches mit Vorbestrahlung}}{\text{Mittelwert des x - Versuches ohne Vorbestrahlung}} - 1 = \text{DVP}$$

x: Vorbestrahlungsdosis (0,05Gy; 0,1Gy; 0,2Gy; 0,5Gy)

Negative DVP bedeuten, dass durch die Vorbestrahlung weniger Kolonien überlebt haben, positive, dass mehr überlebt haben, im Vergleich zu einer alleinigen 2Gy-Bestrahlung.

Die Unterschiede zwischen den beiden Zelllinien wurden für jede Vorbestrahlungsdosis nach der Formel  $\Delta = \text{DVP}_{\text{HCV29}} - \text{DVP}_{\text{RT4}}$  berechnet. Je größer diese Differenz  $\Delta$  ist, desto größer ist der Unterschied der Wirkung der Vorbestrahlungsdosis auf die gesunden und die karzinomatösen Urothelzellen, d.h. die gesunden Zellen werden besser geschont und die

Tumorzellen stärker geschädigt. Die größte Differenz müsste demnach die geeignetste Vorbestrahlungsdosis zur Optimierung der Balance zwischen Tumorkontrolle und Schädigung des gesunden Gewebes kennzeichnen.

Die graphische Darstellung der Versuchsergebnisse erfolgte in Boxplots, Histogrammen und einem Liniendiagramm.

Zur Bewertung der Ergebnisse wurde mit Hilfe des SPSS–Statistikprogrammes ein T-Test für unabhängige Stichproben durchgeführt. Signifikant war ein Unterschied bei  $p < 0,05$ .

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Wirkung verschiedener Vorbestrahlungsdosen auf RT4-Zellen

#### 4.1.1 Wirkung von 0,05Gy Vorbestrahlungsdosis

Bei diesem Versuch wurden RT4-Zellen nicht oder mit 0,05Gy vorbestrahlt, bevor sie 4h später eine Folgedosis von 2Gy erhielten. Aus jeweils 88 Einzelwerten für das auf die Kontrolle normierte Überleben der beiden Untergruppen wurden Mittelwert, Standardabweichung, Median, 1. und 3. Quartil, Minimum und Maximum errechnet (vgl. Tab.1).

Vorbestrahlungsdosis in Gy	Anzahl der ausgewerteten Kammern	Mittelwert des normierten Überlebens	Standardabweichung	Minimum	1.Quartil	Median	3.Quartil	Maximum
0	88	0,4828	0,1698	0,1506	0,3545	0,4969	0,5814	0,8944
0,05	88	0,4398	0,1653	0,0753	0,3087	0,4596	0,5631	0,8551

Tab.1: Deskriptive statistische Parameter des 0,05Gy-Vorbestrahlungsversuches mit RT4-Zellen

Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgt in Boxplots (vgl. Abb.4).

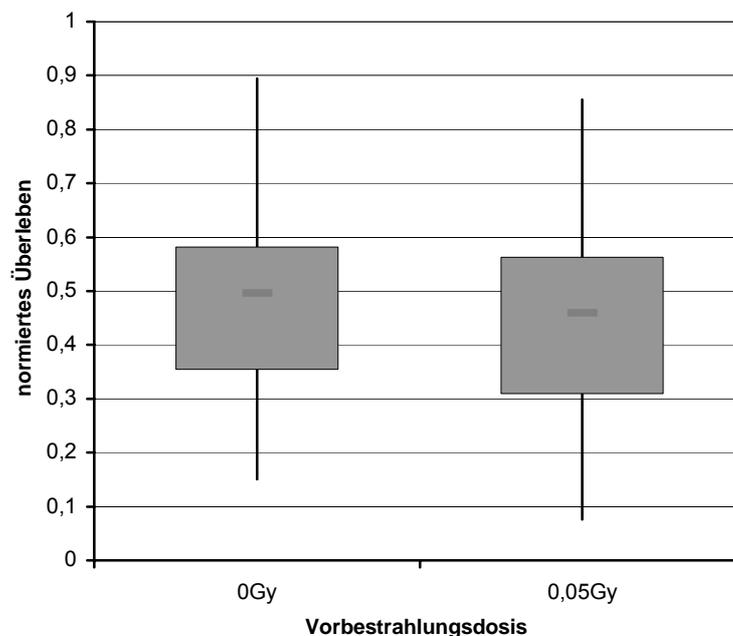


Abb.4: Vergleich der Wirkung von 0,05Gy Vorbestrahlungsdosis + 2Gy Folgedosis und 2Gy Folgedosis alleine auf das Überleben von RT4-Zellen

Aus Tab.1 und Abb.4 ist ersichtlich, dass durch eine Vorbestrahlung mit 0,05Gy 4h vor der Folgedosis von 2Gy nur 44,0% der RT4-Zellen überlebten, wohingegen 48,3% der nur mit 2Gy bestrahlten Zellen Kolonien bilden konnten. Der Unterschied zwischen vorbestrahlten und nicht vorbestrahlten RT4-Zellen ist mit  $p = 0,090$  zwar noch nicht signifikant, lässt allerdings die Tendenz zu einem niedrigeren Überleben nach Vorbestrahlung mit 0,05Gy erkennen.

### 4.1.2 Wirkung von 0,1Gy Vorbestrahlungsdosis

Die Berechnung von Mittelwert, Standardabweichung, Median, 1. und 3. Quartil, Minimum und Maximum für das auf die Kontrolle normierte Überleben von RT4-Zellen mit und ohne 0,1Gy Vorbestrahlung 4h vor der Folgedosis von 2Gy ergab die in Tab.2 aufgeführten Ergebnisse. Als Grundlage für die Berechnung dienten die Werte von jeweils 64 Kammern.

Vorbestrahlungsdosis in Gy	Anzahl der ausgewerteten Kammern	Mittelwert des normierten Überlebens	Standardabweichung	Minimum	1.Quartil	Median	3.Quartil	Maximum
0	64	0,4277	0,1412	0,1446	0,3193	0,4204	0,5262	0,8050
0,1	64	0,3783	0,1280	0,1265	0,2892	0,3888	0,4894	0,5950

Tab.2: Deskriptive statistische Parameter des 0,1Gy-Vorbestrahlungsversuches mit RT4-Zellen

In Abb.5 werden diese Ergebnisse in Form von Boxplots graphisch dargestellt.

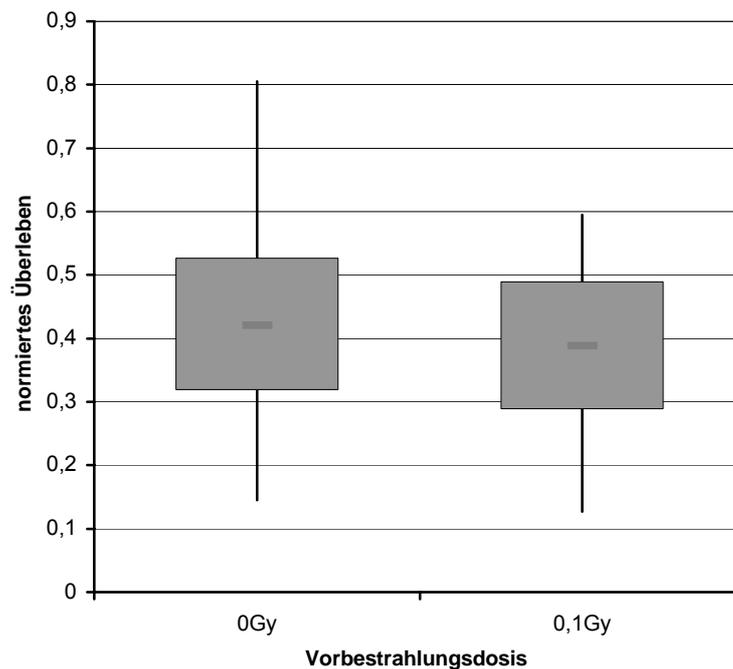


Abb.5: Vergleich der Wirkung von 0,1Gy Vorbestrahlungsdosis + 2Gy Folgedosis und 2Gy Folgedosis alleine auf das Überleben von RT4-Zellen

Von den mit 0,1Gy vorbestrahlten RT4-Zellen überlebten 37,8%, die nur mit der 2Gy-Fraktion bestrahlten Zellen zeigten ein Überleben von 42,8%. Mit  $p = 0,040$  ist das Überleben nach 0,1Gy Vorbestrahlung auf einem 95%-Signifikanzniveau signifikant niedriger als ohne Vorbestrahlung. Das bedeutet, dass durch eine Vorbestrahlung mit 0,1Gy 4h vor der Folgedosis von 2Gy mehr RT4-Urothelkarzinomzellen abgetötet werden können als durch eine alleinige Bestrahlung mit 2Gy.

### 4.1.3 Wirkung von 0,2Gy Vorbestrahlungsdosis

Die Auswertung der jeweils 32 Kammern des 0,2Gy-Vorbestrahlungsdosis-Versuches ergab für Mittelwert, Standardabweichung, Median, 1. und 3. Quartil, Minimum und Maximum des auf die Kontrolle normierten Überlebens die in Tab.3 angegebenen Werte. Bei diesem Versuchsansatz wurden RT4-Urothelkarzinomzellen mit 0,2Gy oder 0Gy vorbestrahlt, bevor sie 4h später eine Dosis von 2Gy erhielten.

Vorbestrahlungsdosis in Gy	Anzahl der ausgewerteten Kammern	Mittelwert des normierten Überlebens	Standardabweichung	Minimum	1.Quartil	Median	3.Quartil	Maximum
0	32	0,3136	0,0996	0,0827	0,2569	0,3032	0,3652	0,6028
0,2	32	0,2635	0,0984	0,0973	0,2068	0,2342	0,3114	0,5719

Tab.3: Deskriptive statistische Parameter des 0,2Gy-Vorbestrahlungsversuches mit RT4-Zellen

In Form von Boxplots graphisch dargestellt, zeigt Abb.6 die Ergebnisse des 0,2Gy-RT4-Versuches.

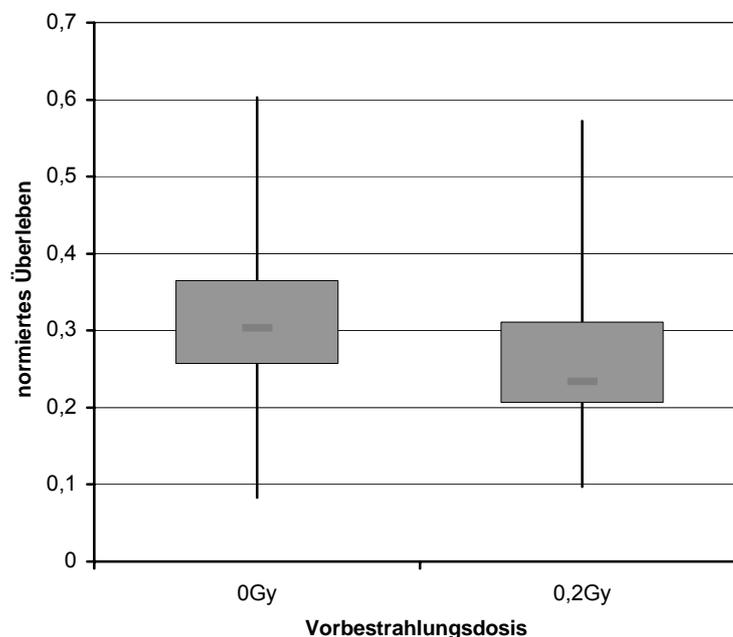


Abb.6: Vergleich der Wirkung von 0,2Gy Vorbestrahlungsdosis + 2Gy Folgedosis und 2Gy Folgedosis alleine auf das Überleben von RT4-Zellen

Durch eine Vorbestrahlung der RT4-Zellen mit 0,2Gy 4h vor der 2Gy-Folgedosis ließ sich ein verstärktes Absterben gegenüber nicht vorbestrahlten Tumorzellen beobachten, was mit  $p=0,047$  auf einem 95%-Signifikanzniveau auch signifikant ist. Hierbei betrug das Überleben für die vorbestrahlte Untergruppe 26,4%, für die nicht vorbestrahlte 31,4%.

#### 4.1.4 Wirkung von 0,5Gy Vorbestrahlungsdosis

Als die Wirkung von 0,5Gy Vorbestrahlungsdosis 4h vor einer Folgedosis von 2Gy untersucht werden sollte, wurden 32 Kammern nicht vorbestrahlt und ebenfalls 32 Kammern mit 0,5Gy vorbestrahlt. Die deskriptiven statistischen Werte für diesen Versuch sind in Tab.4 aufgeführt.

Vorbestrahlungsdosis in Gy	Anzahl der ausgewerteten Kammern	Mittelwert des normierten Überlebens	Standardabweichung	Minimum	1.Quartil	Median	3.Quartil	Maximum
0	32	0,3324	0,1164	0,1001	0,2347	0,3431	0,4205	0,5433
0,5	32	0,2599	0,1228	0,0578	0,1588	0,2507	0,3646	0,4861

Tab.4: Deskriptive statistische Parameter des 0,5Gy-Vorbestrahlungsversuches mit RT4-Zellen

Graphisch dargestellt ergibt sich das in Abb.7 wiedergegebene Bild.

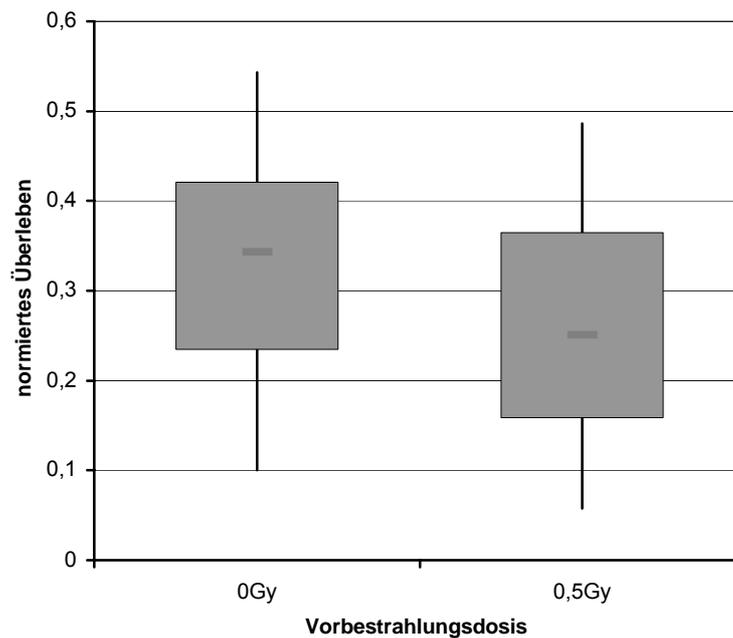


Abb.7: Vergleich der Wirkung von 0,5Gy Vorbestrahlungsdosis + 2Gy Folgedosis und 2Gy Folgedosis alleine auf das Überleben von RT4-Zellen

Auch dieser Versuch lässt erkennen, dass durch 0,5Gy Vorbestrahlung signifikant mehr Zellen abgetötet wurden als durch die 2Gy-Folgedosis alleine, so ist auch das auf die Kontrolle normierte Überleben der vorbestrahlten Zellen mit 26,0% niedriger als das der nur mit 2Gy bestrahlten Vergleichsgruppe, in der 33,2% der RT4-Zellen Kolonien bilden konnten. Der p-Wert für diesen Versuchsansatz beträgt 0,018.

## 4.2 Wirkung verschiedener Vorbestrahlungsdosen auf HCV29-Zellen

### 4.2.1 Wirkung von 0,05Gy Vorbestrahlungsdosis

Nachdem in den vorhergehenden Versuchen die Wirkung verschiedener Vorbestrahlungsdosen auf RT4-Urothelkarzinomzellen untersucht worden war, interessierte nun die Wirkung dieser Dosen auf normale HCV29-Urothelzellen. Wurden diese Zellen 4h nach einer Vorbestrahlung mit 0Gy oder 0,05Gy mit 2Gy nachbestrahlt, so ergaben sich für Mittelwert, Standardabweichung, Median, 1. und 3. Quartil, Minimum und Maximum des auf die Kontrolle normierten Überlebens die in Tab.5 aufgeführten Ergebnisse. In die Berechnung gingen für die vorbestrahlte Untergruppe 73 Kammern und für die nur mit 2Gy bestrahlte 76 Kammern ein.

Vorbestrahlungsdosis in Gy	Anzahl der ausgewerteten Kammern	Mittelwert des normierten Überlebens	Standardabweichung	Minimum	1.Quartil	Median	3.Quartil	Maximum
0	76	0,3351	0,1092	0,1082	0,2898	0,3598	0,4090	0,5030
0,05	73	0,3797	0,1172	0,0917	0,3128	0,4092	0,4444	0,6361

Tab.5: Deskriptive statistische Parameter des 0,05Gy-Vorbestrahlungsversuches mit HCV29-Zellen

Abb.8 auf der folgenden Seite stellt die Werte aus Tab.5 graphisch dar.

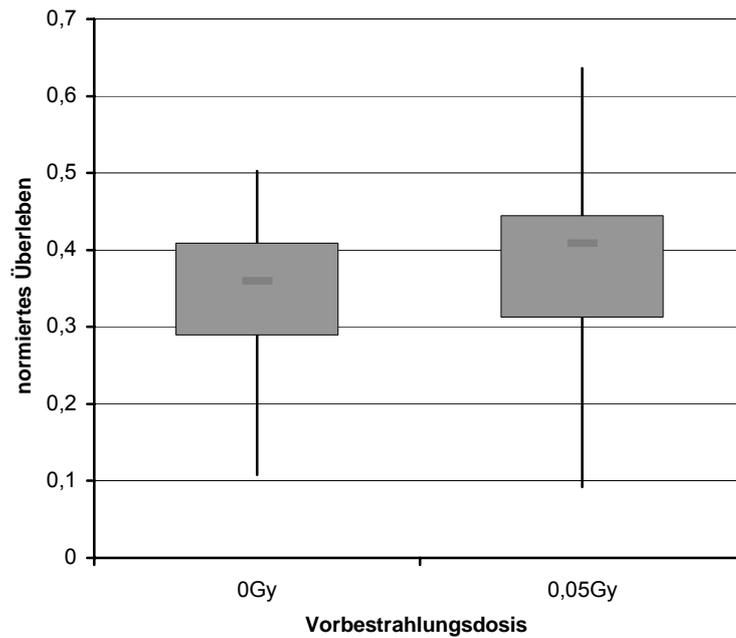


Abb.8: Vergleich der Wirkung von 0,05Gy Vorbestrahlungsdosis + 2Gy Folgedosis und 2Gy Folgedosis alleine auf das Überleben von HCV29-Zellen

Wie aus Tab.5 und Abb.8 ersichtlich ist, überlebten mehr HCV29-Kolonien, wenn sie mit 0,05Gy vorbestrahlt wurden (Überleben mit Vorbestrahlung: 38,0%, Überleben ohne Vorbestrahlung: 33,5%). Diese Beobachtung wird auch durch einen p-Wert von 0,018 bestätigt. Dieser sagt aus, dass auf einem 95%-Signifikanzniveau signifikant mehr Zellen überlebten, wenn sie mit 0,05Gy 4h vor der 2Gy-Dosis vorbestrahlt wurden.

## 4.2.2 Wirkung von 0,1Gy Vorbestrahlungsdosis

Die Beobachtung der Wirkung von 0,1Gy bzw. 0Gy Vorbestrahlung 4h vor der 2Gy-Dosis auf HCV29-Zellen führte zu den in Tab.6 angegebenen deskriptiven statistischen Werten. Für die Auswertung wurden jeweils 32 Kammern herangezogen.

Vorbestrahlungsdosis in Gy	Anzahl der ausgewerteten Kammern	Mittelwert des normierten Überlebens	Standardabweichung	Minimum	1.Quartil	Median	3.Quartil	Maximum
0	32	0,2871	0,0640	0,1658	0,2279	0,2913	0,3390	0,4024
0,1	32	0,2985	0,0552	0,2021	0,2566	0,2911	0,3443	0,4366

Tab.6: Deskriptive statistische Parameter des 0,1Gy-Vorbestrahlungsversuches mit HCV29-Zellen

In Form von Boxplots visualisiert ergeben die Werte aus Tab.6 folgende Darstellung.

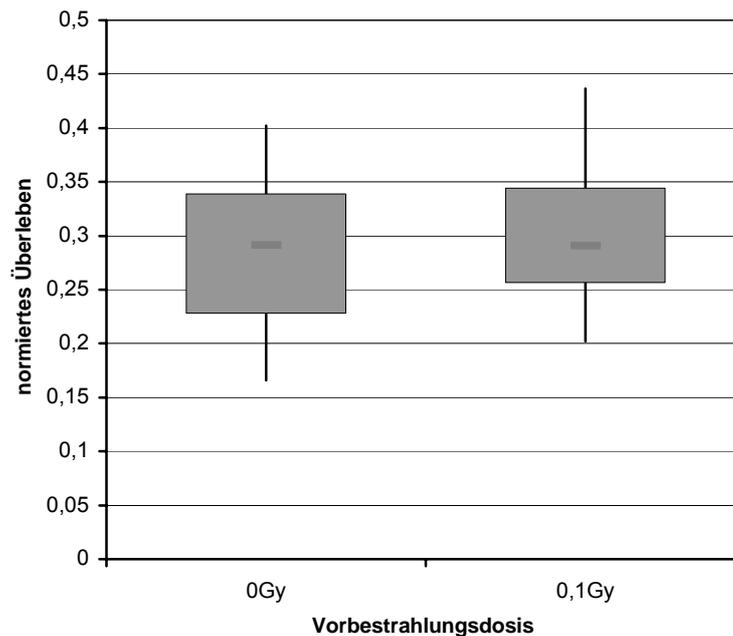


Abb.9: Vergleich der Wirkung von 0,1Gy Vorbestrahlungsdosis + 2Gy Folgedosis und 2Gy Folgedosis alleine auf das Überleben von HCV29-Zellen

Mit  $p = 0,446$  besteht zwar kein signifikanter Unterschied zwischen der Bestrahlung von HCV29-Zellen mit und ohne 0,1Gy Vorbestrahlung 4h vor der 2Gy-Folgedosis, dennoch ist aus Abb.9 die Tendenz ersichtlich, dass die vorbestrahlten Zellen etwas mehr Kolonien bilden konnten. Während 30,0% der vorbestrahlten Zellen überlebten, bildeten nur 28,7% der nicht vorbestrahlten Zellen Kolonien.

### 4.2.3 Wirkung von 0,2Gy Vorbestrahlungsdosis

Die Auswertung der jeweils 32 Kammern des HCV29-0,2Gy-Versuches bezüglich Mittelwert, Standardabweichung, Median, 1. und 3. Quartil, Minimum und Maximum des auf die Kontrolle normierten Überlebens ist in Tab.7 wiedergegeben. Bei diesem Versuchsansatz wurde die eine Untergruppe mit 0,2Gy und 4h später mit 2Gy bestrahlt, die andere nur mit 2Gy.

Vorbestrahlungsdosis in Gy	Anzahl der ausgewerteten Kammern	Mittelwert des normierten Überlebens	Standardabweichung	Minimum	1.Quartil	Median	3.Quartil	Maximum
0	32	0,3365	0,0661	0,2332	0,2881	0,3258	0,3935	0,4718
0,2	32	0,3288	0,0736	0,2121	0,2655	0,3158	0,3704	0,5197

Tab.7: Deskriptive statistische Parameter des 0,2Gy-Vorbestrahlungsversuches mit HCV29-Zellen

Die graphische Darstellung des HCV29-0,2Gy-Versuches erfolgt in Boxplots (vgl. Abb.10).

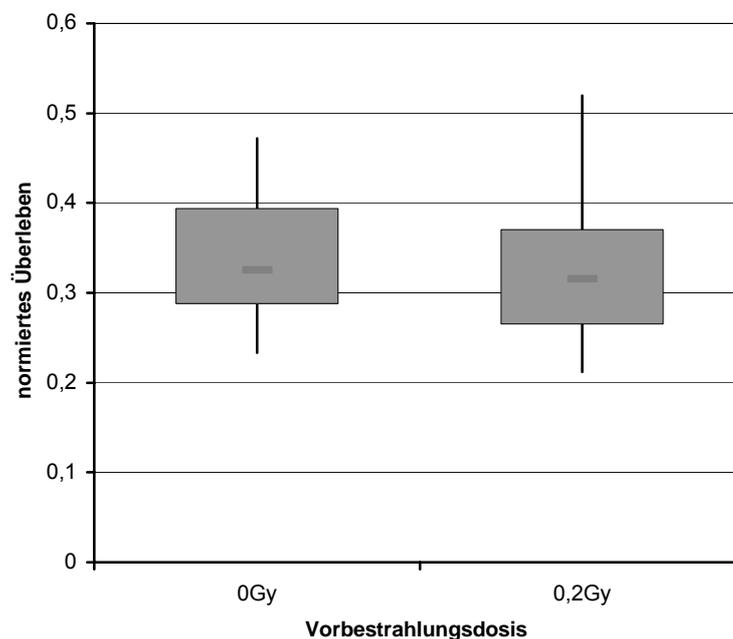


Abb.10: Vergleich der Wirkung von 0,2Gy Vorbestrahlungsdosis + 2Gy Folgedosis und 2Gy Folgedosis alleine auf das Überleben von HCV29-Zellen

Wenn HCV29-Zellen zusätzlich zu den 2Gy noch 4h zuvor eine Dosis von 0,2Gy erhielten, so überlebten tendenziell weniger Kolonien (32,9%) als in der Vergleichsgruppe, die nur mit 2Gy bestrahlt wurde (33,7%). Dieser Unterschied ist allerdings mit  $p=0,658$  nicht signifikant.

#### 4.2.4 Wirkung von 0,5Gy Vorbestrahlungsdosis

Zuletzt interessierte noch die Wirkung von 0,5Gy Vorbestrahlungsdosis auf 4h später mit 2Gy nachbestrahlte HCV29-Urothelzellen. Hierzu wurden 32 Kammern vorbestrahlt und ebenfalls 32 Kammern nicht vorbestrahlt. Die deskriptiven statistischen Parameter dieses Versuches finden sich in Tab.8.

Vorbestrahlungsdosis in Gy	Anzahl der ausgewerteten Kammern	Mittelwert des normierten Überlebens	Standardabweichung	Minimum	1.Quartil	Median	3.Quartil	Maximum
0	32	0,3485	0,0600	0,2604	0,2929	0,3452	0,3913	0,4966
0,5	32	0,3047	0,0593	0,1968	0,2514	0,2953	0,3540	0,3995

Tab.8: Deskriptive statistische Parameter des 0,5Gy-Vorbestrahlungsversuches mit HCV29-Zellen

Graphisch dargestellt ergeben die Werte des HCV29-0,5Gy-Versuches folgendes Bild (vgl. Abb.11).

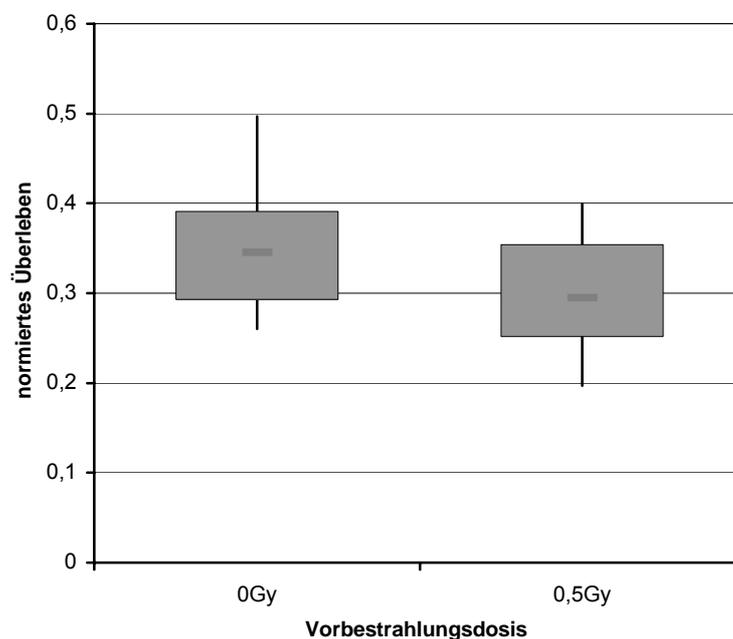


Abb.11: Vergleich der Wirkung von 0,5Gy Vorbestrahlungsdosis + 2Gy Folgedosis und 2Gy Folgedosis alleine auf das Überleben von HCV29-Zellen

Wurden HCV29-Zellen mit 0,5Gy 4h vor einer Folgedosis von 2Gy vorbestrahlt, so überlebten auf einem 99%-Signifikanzniveau signifikant weniger Kolonien als ohne Vorbestrahlung. Der p-Wert dieses Versuches ist 0,005. Das prozentuale Überleben betrug 30,5% für vorbestrahlte und 34,8% für nicht vorbestrahlte Zellen.

### 4.3 Vergleich der Wirkung verschiedener Vorbestrahlungsdosen auf RT4- und HCV29-Zellen

Im Weiteren sollte die Wirkung der 0,05Gy, 0,1Gy, 0,2Gy und 0,5Gy Vorbestrahlungsdosis auf die HCV29- und RT4-Zellen verglichen werden. Abb.12 zeigt die Ergebnisse der RT4-Versuche und Abb.13 die Werte der HCV29-Bestrahlungen in Form von Histogrammen. Die Balkenhöhe entspricht jeweils dem Mittelwert des auf die Kontrolle normierten Überlebens.

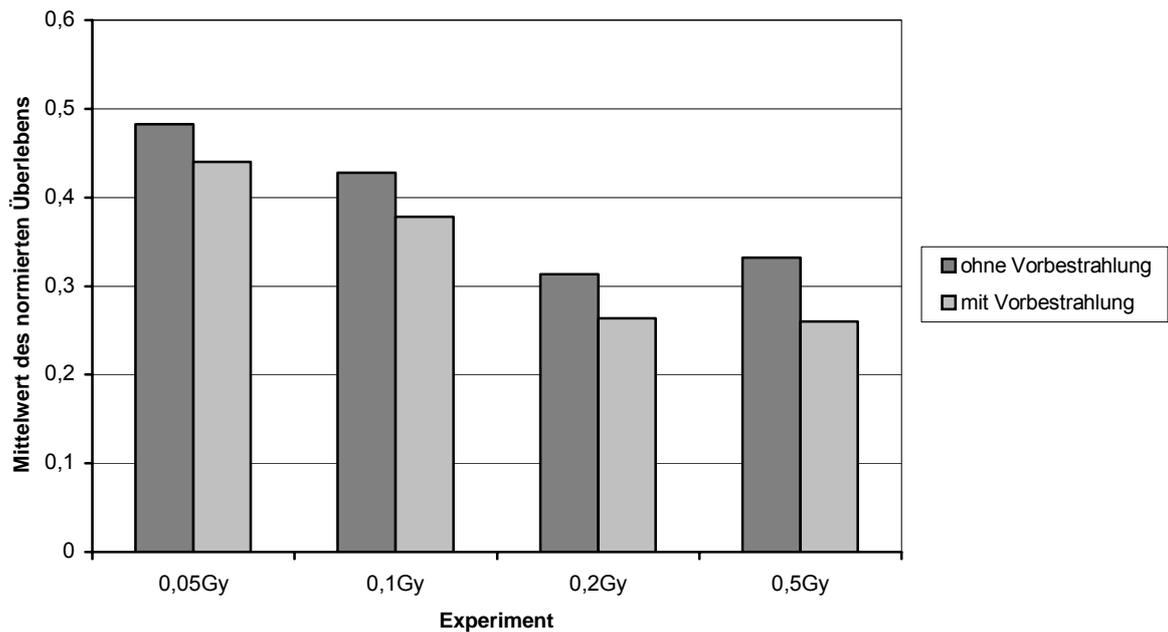


Abb.12: Mittelwerte des normierten Überlebens von RT4-Zellen bei den verschiedenen Vorbestrahlungsversuchen

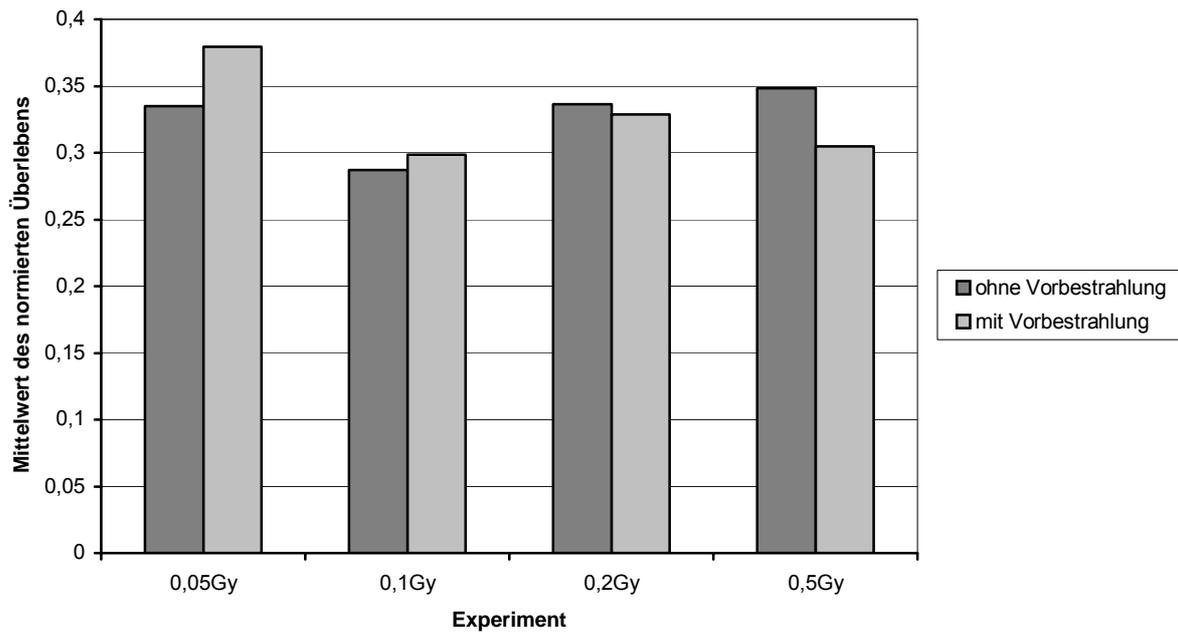


Abb.13: Mittelwerte des normierten Überlebens von HCV29-Zellen bei den verschiedenen Vorbestrahlungsversuchen

Aus der graphischen Gegenüberstellung in Abb.12 ist ersichtlich, dass durch alle Vorbestrahlungsdosen mehr RT4-Urothelkarzinomzellen abgetötet werden als nur durch die 2Gy-Bestrahlung alleine.

Für die Auswertung der HCV29-Urothelzellen-Versuche ergibt sich aus Abb.13, dass durch eine Vorbestrahlung mit 0,05Gy 4h vor der 2Gy-Dosis signifikant mehr gesunde Zellen überleben als durch die 2Gy-Dosis alleine. Für die 0,1Gy-Vorbestrahlungsdosis ist dieser schonende Effekt in der Tendenz auch noch vorhanden. Bei 0,2Gy kehrt er sich tendenziell um, so dass beim 0,5Gy-Vorbestrahlungsversuch auch die normalen HCV29-Urothelzellen signifikant mehr geschädigt werden als ohne Vorbestrahlung.

Ferner fällt auf, dass die Mittelwerte der nicht vorbestrahlten Untergruppen der Versuche bei den RT4-Zellen stark und bei den HCV29-Zellen geringfügiger schwanken. Deshalb sind auch die absoluten Zahlen der vorbestrahlten Untergruppen nicht direkt miteinander vergleichbar.

## 4.4 Ergebnisse der Ermittlung der geeigneten Vorbestrahlungsdosis für die Idee eines neuen Therapiekonzeptes zur Urothelkarzinombestrahlung

Da bei der Bestrahlung von Tumoren immer gesundes und krankes Gewebe einer Dosis ausgesetzt wird, steht man stets vor der Schwierigkeit möglichst viel Tumorgewebe abzutöten und dabei gleichzeitig möglichst viel gesundes Gewebe zu schonen. Indem sich Unterschiede der Wirkung adaptiver Dosen zwischen den normalen und Tumorzellen gezeigt hatten, sollte ermittelt werden mit welcher Vorbestrahlungsdosis dieses Problem umgangen werden könnte. Hierzu mussten, wie unter 3.2.5 beschrieben, zunächst die Mittelwerte der vorbestrahlten Untergruppen auf die jeweils dazugehörigen Mittelwerte der nicht vorbestrahlten Untergruppen bezogen werden, um den schon unter 4.3 erwähnten Fehler durch die Schwankungen der Versuche untereinander zu eliminieren. Die errechneten Dosisvergleichsparameter (DVP) für RT4- und HCV29-Zellen sowie ihre Differenzen  $\Delta$  für die vier Vorbestrahlungsdosen sind in Tab.9 angegeben.

Vorbestrahlungsdosis	DVP <sub>HCV29</sub>	DVP <sub>RT4</sub>	$\Delta$
0,05Gy	0,132907	-0,089110	0,222017
0,1Gy	0,039949	-0,115443	0,155392
0,2Gy	-0,023095	-0,159847	0,136752
0,5Gy	-0,125469	-0,217976	0,092507

Tab.9: Dosisvergleichsparameter der beiden Zelllinien und ihre Differenzen  $\Delta$  für die vier Vorbestrahlungsdosen

Die DVP-Werte sind in Abb.14 auf der nächsten Seite graphisch dargestellt.

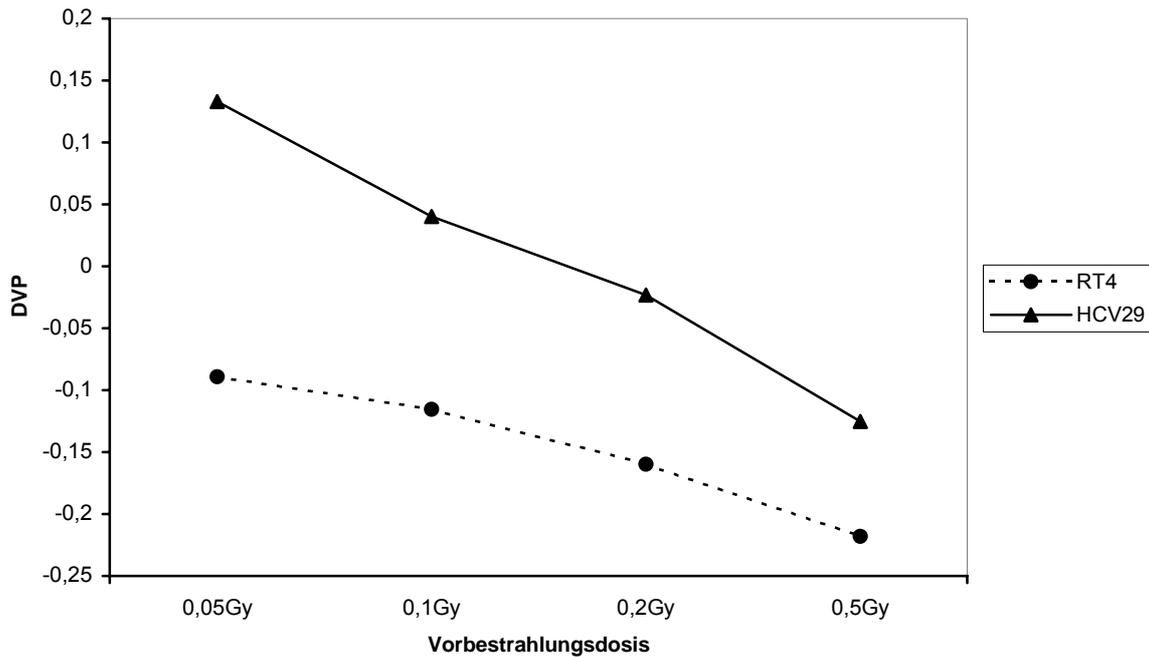


Abb.14: Dosisvergleichsparameter der beiden Zelllinien für die vier Vorbestrahlungsdosen

Die DVP für RT4-Zellen haben bei allen Vorbestrahlungsdosen negative Werte, da weniger Kolonien überlebten, wenn sie zusätzlich zu der 2Gy-Folgedosis noch 4h vorher eine Vorbestrahlungsdosis erhalten hatten. Mit zunehmender Vorbestrahlungsdosis wird der Wert des DVP immer negativer entsprechend des immer geringer werdenden Überlebens der Urothelkarzinomzellen.

Für HCV29-Zellen ergeben sich andere Ergebnisse: Die DVP für 0,05Gy und 0,1Gy Vorbestrahlung zeigen positive Werte, d.h. es überlebten mehr Kolonien durch den schützenden Effekt dieser beiden niedrigen Vorbestrahlungsdosen. 0,2Gy und 0,5Gy Vorbestrahlung führten zu einem niedrigeren Überleben und damit zu negativen DVP.

Aus Tab.9 und Abb.14 ist ersichtlich, dass die Differenz  $\Delta$  für 0,05Gy Vorbestrahlungsdosis am größten ist und mit zunehmender Vorbestrahlungsdosis immer mehr abnimmt.

## 5 Diskussion

Das Ziel jeder Strahlentherapie besteht darin, den Tumor möglichst effektiv abzutöten und dabei das gesunde Gewebe bestmöglich zu schonen, um Nebenwirkungen zu vermeiden. Die Ergebnisse obiger Experimente zur Wirkung adaptiver Dosen auf gesunde und Tumorzellen ebnen den Weg zu diesem Ziel für das Harnblasenkarzinom. Aussagen über eventuelle ähnliche Effekte bei anderen Tumoren können nicht gemacht werden, da in dieser Arbeit nur die adaptive Antwort von HCV29- und RT4-Zellen untersucht worden ist. Um generalisieren zu können oder auch Patienten von den Ergebnissen der AR-Versuche profitieren zu lassen, sind noch weitere Studien nötig, die durch diese Arbeit einen Anstoß bekommen sollen.

Einige Voraussetzungen für die erfolgreiche Umsetzung der Ergebnisse in eine klinische Anwendung sollen im Folgenden angesprochen werden.

Die Versuche dieser Arbeit untersuchten RT4-Zellen stellvertretend für alle verschiedenen Harnblasenkarzinomzellen. Ob diese jedoch genauso reagieren ist noch nicht bewiesen, für den klinischen Erfolg aber vonnöten. Ferner muss noch überprüft werden, ob die hochproliferative Urothelzelllinie HCV29 *in vitro* für das ruhende Urothel *in vivo* repräsentativ ist. Da eine Harnblasenwand nicht nur aus Urothel besteht sondern auch mesenchymale Elemente enthält, ist deren Reaktion mit einer adaptiven Antwort ebenfalls für den klinischen Nutzen der Anwendung adaptiver Dosen notwendig. In weiteren Versuchen muss auch erst noch untersucht werden, ob der Unterschied zwischen gesunden und Tumorzellen in der Reaktion auf adaptive Bestrahlungsdosen ein breites Phänomen darstellt oder zumindest für die Harnblase generell vorhanden ist. Bisher wurden nur Experimente *in vitro* durchgeführt. Der Beweis, dass die adaptive Antwort und Hyperradiosensitivität auch *in vivo* existieren und nachweisbar sind, muss erst noch erbracht werden, z.B. zunächst mit Hilfe von Tierexperimenten. Die Bedingungen einer fraktionierten Radiotherapie sind *in vitro* schwer zu simulieren, da hierzu die Zellkulturen mit 60Gy über 6 Wochen bestrahlt werden müssten. Interessant für die klinische Anwendung wäre jedoch inwieweit sich der in den Experimenten dieser Arbeit gefundene Effekt durch eine Fraktionierung vielleicht sogar noch potenziert. Im Anschluss daran wäre auch ein Vergleich mit einer akzelerierten hyperfraktionierten Radiotherapie sowie die Kombination mit einer Chemotherapie interessant.

Für die Beantwortung all dieser Fragen ist es jedoch zum jetzigen Zeitpunkt noch zu früh. Bisher konzentrierte sich die AR-Forschung v.a. auf die zelluläre und molekulare Ebene der

Untersuchung des Effektes, so auch die Experimente dieser Arbeit, wenn auch die klinische Anwendung nie aus den Augen verloren wurde.

Eine adaptive Antwort, d.h. ein gesteigertes Zellüberleben nach der 2Gy-Fraktion durch die schützende Wirkung einer niedrigen Vorbestrahlungsdosis konnte für HCV29-Urothelzellen, aber nicht für RT4-Urothelkarzinomzellen gefunden werden.

HCV29-Zellen, die mit 0,05Gy vorbestrahlt worden waren, zeigten ein höheres Überleben als nicht vorbestrahlte Zellen. Neben dieser Steigerung des Überlebens [57, 86, 103, 122, 208, 248] werden in der Literatur noch andere Endpunkte der adaptiven Antwort beschrieben, die z.T. koexistieren, aber auch teilweise nur einzeln auftreten. So induziert die Vorbestrahlungsdosis eine Verringerung der Chromosomenaberrationen wie Micronucleiformation (Micronuclei sind Chromosomenbruchstücke oder ganze Chromosomen außerhalb des Hauptkernes, die in einer Membran eingeschlossen sind), Translokationen, Deletionen, Dizentrische u.a. sowie des Schwesterchromatidaustausches [5, 32, 41, 57, 65, 67, 71, 82, 133, 151, 153, 174, 177, 182, 217, 218, 221, 231, 238, 241, 251] und der DNS-Einzelstrangbrüche [100]. Hierbei ist auffällig, dass zwar die Gesamtzahl der Aberrationen gesenkt wird, für manche Aberrationstypen aber auch Synergismen beobachtet werden [107], die morphologischen Transformationen ansteigen [57] und dass die Zahl non-aberranter Zellen höher als das Überleben ist, d.h. dass einige Zellen eventuell Träger eines letalen Schadens sind, der sich nicht als chromosomale Aberration manifestiert [178]. Die Wirkung auf die Einleitung der Apoptose liefert widersprüchliche Ergebnisse. Während die einen eine gesteigerte Apoptoserate beobachten [22, 34, 35], ist sie bei anderen verringert [49, 63, 108, 169, 173, 220]. Ferner wird eine geringere Fehlbildungs- und Mutationsfrequenz [57, 84, 151, 154, 166, 213, 220, 252, 253, 254], die v.a. die einfachen Mutationen betrifft [213, 254], und ein verzögertes Primärtumor- und Metastasenwachstum [11, 12] beobachtet. Außerdem findet sich auch eine Senkung des initialen DNS-Schadens [54, 227] und der Inzidenz von Gigantenzellen, die einen Marker für genetische Instabilität darstellen [208].

Während HCV29-Zellen eine adaptive Antwort nur für 0,05Gy und 0,1Gy und nicht für 0,2Gy und 0,5Gy Vorbestrahlungsdosis zeigten, werden vergleichbare Effekte auch durch 0,005-0,5Gy [20, 42, 176, 182, 237, 247] oder sogar 1,5Gy [5] als adaptive Dosis erzielt. In der Literatur ist auch eine Dosisratenabhängigkeit der adaptiven Antwort beschrieben, so soll

nur eine hohe Dosis mit niedriger Dosisrate und eine niedrige Dosis mit hoher Dosisrate eine AR induzieren [158, 181].

Einige Autoren finden eine Abhängigkeit der Wirkung der niedrigen Strahlendosis von der Zellzyklusphase, in der sie appliziert wird [218]. Eine adaptive Antwort sei nur durch eine Vorbestrahlung in der G<sub>1</sub>-Phase des Zellzyklus, nicht aber durch eine in der G<sub>0</sub>-Phase, auslösbar [103, 177, 221], außerdem sei die adaptive Dosis in G<sub>1</sub> effektiver als in S [93] und eine AR auch nur dann auslösbar, wenn die Folgedosis in der G<sub>2</sub>- oder S-Phase und nicht in der G<sub>1</sub>-Phase gegeben wird [85, 159]. Die Ergebnisse der Versuche zur Zellzyklusabhängigkeit sind aber widersprüchlich [176], einige Autoren schließen eine Zellzyklusabhängigkeit aus [24, 57, 117, 184]. Ähnlich gegensätzliche Meinungen gibt es auch darüber, ob die niedrige Dosis eine Zellzyklusprogressionsveränderung hervorrufen kann, die an der adaptiven Antwort beteiligt ist, [17, 30, 59, 76, 103, 108, 152, 162, 193, 235] oder nicht [57, 143, 163, 221, 224, 235].

Bei den HCV29- und RT4-Versuchen betrug der zeitliche Abstand zwischen Vorbestrahlung und Folgedosis 4h wie ihn auch andere Autoren als optimal empfinden [17, 63, 71]. Andere Experimente decken eine induzierte Radioresistenz bzw. eine adaptive Antwort auch schon nach 30min-1h [49, 72, 80, 174] oder aber erst nach mindestens 5h [93, 154, 248, 249] auf. Der induzierte schützende Effekt verschwindet nach 6-12h [93, 174, 221, 248] bzw. drei Zellzyklen [24], wobei nicht klar ist, ob durch ein zeitabhängiges Verschwinden oder durch Verdünnung [237]. Die Dauer des AR-Effektes scheint abhängig von der Vorbestrahlungsdosis zu sein [41, 228] und die adaptive Antwort nach 48h bzw. drei Zellzyklen wieder induzierbar [24, 49, 174]. Auf eine Synchronisation der Zellen wurde verzichtet, da sich die Zellen im Körper auch nicht in der gleichen Zellzyklusphase befinden.

Ferner zeigt die adaptive Antwort auf ionisierende Strahlung auch Kreuzresistenz mit anderen DNS-schädigenden Agenzien wie Hyperthermie [34], UV-Strahlung [67, 228, 230], Wasserstoffperoxyd [33, 56, 100, 116, 168, 228, 241] und Etoposid, 1,3-Bis(2-chlorethyl)-1-nitrosourea BCNU, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin MNNG, Bleomycin, Mitomycin C, 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetat TPA, Cisplatin und Maleic Hydrazide MH [29, 52, 56, 67, 82, 168, 180, 228, 230, 238, 240, 241].

Ob die adaptive Antwort auch durch Hoch-LET-Strahlung (LET = Linearer Energie Transfer) wie Protonen, Neutronen oder Alphateilchen ausgelöst werden kann, ist umstritten, da als Induktionsschaden Einzelstrangbrüche angenommen werden, die vor allem durch Niedrig-LET-Strahlung induziert werden. Hoch-LET-Strahlung hingegen erzeugt v.a. multiple Schäden, die irreparabel und damit letal sind. [AR: 57, 79, 116, 121, 122; keine AR: 19, 42, 65, 66, 70, 85, 99, 117, 120, 242].

Der Mechanismus aller durch niedrige Dosen ionisierender Strahlung ausgelösten Effekte ist heute auch nur in Ansätzen aufgeklärt.

Verworfen worden ist bisher nur die Theorie von der Existenz radiosensitiver Subpopulationen, die durch niedrige Dosen abgetötet werden und eine radioresistente Population hinterlassen, die sich bei höheren Dosen besser vermehren kann [190, 191, 192]. Unwahrscheinlich ist diese Vorstellung unter anderem deshalb, weil das Überleben einer Subpopulation >100% und ein kleiner Teil einer Population ca. 50mal empfindlicher als der Rest sein müsste [80, 96, 117, 121, 193, 224, 244].

Der vermutete Mechanismus der Niedrigdosisantworten umfasst das Zusammenwirken diverser Signalkaskaden, Transkriptionsfaktoren, Gene, Proteine, Reparatursysteme, DNS-Konformationsänderungen und eventuell sogar parakriner Faktoren.

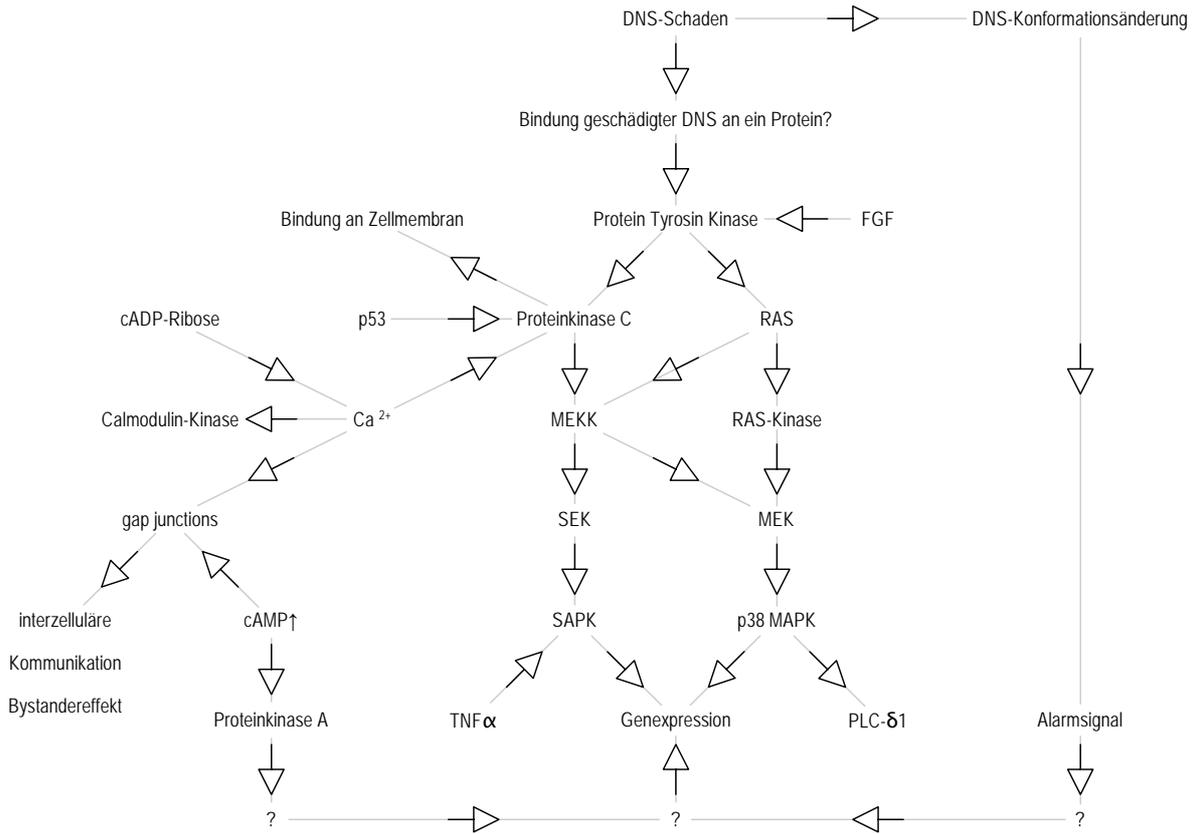
Das im Folgenden angeführte Modell wurde aus der Zusammenfassung diverser Literaturstellen entwickelt, die z.T. widersprüchliche Ergebnisse liefern.

Durch die niedrige Vorbestrahlungsdosis entstehen im Zellkern verschiedene Schäden (Basenschäden, Addukte, DNS-Quervernetzungen und v.a. Einzelstrangbrüche) [113, 196] und DNS-Konformationsänderungen [172, 205], die neben Radikalen, cAMP-Level-, pH- und Membran-Veränderungen die anschließenden Signalkaskaden triggern [39, 47, 75, 119, 136, 193, 195]. Via Protein-Tyrosin-Kinase (PTK) kommt es zur Aktivierung weiterer Proteinkinasen, darunter der Proteinkinase C (PK-C) [57, 114, 215], und des Ras-Systems, was letztendlich zu einer veränderten Genexpression und mRNA-Synthese führt [66, 146, 206]. Gesteigert abgelesen werden die Protoonkogene c-myc, c-fos, c-jun und c-Ha-ras [142], die Transkriptionsfaktoren AP-1 [15], Nf- $\kappa$ B [141], Creb1 und Sp1 [57], das early growth response 1 Gen (EGR1), Bcl-2, das die Apoptose inhibiert, die Gene für den epidermal growth factor receptor EGFR (Erb-B) [83], der wiederum extracellular signal-regulated kinase (ERK 1/2) aktiviert und somit zur Zellproliferation führt [208], das replication proteine A [105], für Rb1 und H4-Histone [242], für Cyclin A und B [124], PBP 74 und andere Hitzeschockprotein-(HSP)-70-assoziierte Proteine [64, 135], HSP25, 28 und 72 [102], für p21

[127], 14-3-3 zeta, GADD153, die Mangansuperoxiddismutase (MnSOD) [55], H<sub>2</sub>-Antigen, DNS-Ligase, DNS-Polymerase  $\alpha$ , Kollagenase, Interleukin 1, Tumornekrosefaktor TNF- $\alpha$  [103], platlet derived growth factor PDGF und fibroblast growth factor FGF, sowie für die X-ray induced proteins XIP 1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 12 [14] und TP53 [59, 169, 173, 202, 220]. Vermindert exprimiert wird das Gen 8.6 sowie die Gene für DIR1 (downregulated by ionizing radiation) [156],  $\beta$ - und  $\gamma$ -Aktin, Topoisomerase I und II [57, 199] und Ornithindecaboxylase [157, 243]. Die XIP greifen in Zellwachstum, DNS-Metabolismus und Rekombination (XIP5=humanes Wachstumshormon, XIP9=c-fps/c-fes), Metastasierung (XIP6=t-PA, XIP12=Angiogenesefaktor), die zelluläre Verteidigung (XIP1=Cyt P450), DNS-Reparatur und Zelltod-Induktion ein [16]. Das TP53-Protein wird auch durch HSP70 (PBP74/Mortalin/Grp75) [160] stimuliert und induziert selbst wiederum BAX, MCL1, BCL X, MDM-2, CDKN1A (p21/WAF1/CIP1) [1, 59] und gadd45 [57] und über diese das proliferating cell nuclear antigen PCNA [17], das sowohl in die Regulation von DNS-Reparatur als auch von Zellzyklusverzögerung, Apoptose und Wachstum eingreift [2, 18, 206]. Die DNS-Reparatur arbeitet unter anderem auch durch eine Hemmung der Thymidinkinase und damit einer verzögerten DNS-Neusynthese, effektiver und fehlerfrei [43, 45, 46, 112]. Oberhalb eines gewissen Schadenslevels wird die immer anwesende N-Reparatur (non-triggered) durch die T-Reparatur (triggered) noch ergänzt [26, 27]. Dies wird auch dadurch untermauert, dass die Angehrate von mit niedrigen Dosen bestrahlten Kulturen höher ist als von unbestrahlten, also die stets nötige Reparaturleistung noch verbessert ist [28, 200]. Insgesamt wird die von der SOS-Reparatur unabhängige [62] Exzisions-, Einzel- und Doppelstrangbruchreparatur angekurbelt [70, 78, 91, 101, 104, 198, 212, 239, 252, 253] unter Einbeziehung von Proteinen, die spezifisch an bestrahlte DNS binden, einer induzierten DNS-Konformationsänderung zur Reparaturererleichterung [10] sowie der Poly-ADP-Ribose-Polymerase [223], der Adenosindiphosphatribosyltransferase und der Ribonukleotidreduktase [209]. Außerdem kommt es zu einer gesteigerten Entgiftung von Radikalen über die Superoxiddismutase, Glutathionreduktase, -peroxidase und -S-Transferase sowie die Katalase und die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase [21, 44, 61, 90, 100, 140, 246, 250]. Verstärkt wird das ganze System durch Ca<sup>2+</sup> [72], das durch cADP-Ribose aus intrazellulären Speichern freigesetzt wird und via Calmodulin-Kinasen und die PK-C wieder einen Einfluss auf die Genexpression hat [152, 232]. Außerdem wirkt es noch auf die gap junctions, die an der interzellulären Kommunikation beteiligt sind [72, 81, 130]. Hierbei wird die durch die niedrige Vorbestrahlungsdosis in der einen Zelle ausgelöste Kaskade auch in anderen Zellen eingeleitet [30] und zwar durch FGF, TNF $\alpha$  [103] und noch unbekannte übertragbare

Faktoren des sogenannten Bystandereffektes. Dieser besagt, dass die Effekte ionisierender Strahlen alleine durch das Medium bestrahlter Zellen in unbestrahlten Zellen ausgelöst werden können [73, 106, 128, 170, 175]. Die Beobachtung, dass die adaptive Antwort auch in reparaturdefizienten Arten ausgelöst werden kann, lässt die Beteiligung der Entfernung reparaturblockierender Faktoren oder einen anderen Stimulierungsweg als bei der gewöhnlichen DNS-Schadensantwort vermuten [50, 51].

Belegt wird die Beteiligung all der oben genannten Faktoren entweder direkt durch den Nachweis der jeweiligen mRNA oder Proteine oder indirekt durch diverse Inhibitoren. So hemmt Cycloheximid die Proteinsynthese, die v.a. an der zweiten Hälfte der AR-Induktion beteiligt ist [56, 68, 76, 116, 241, 249], 3-Aminobenzamid die Poly-ADP-Ribose-Polymerase, deren verzweigte Polymere an Histonschwänze binden [87, 115, 121, 182, 224], 5,6-dichloro-1- $\beta$ -d-ribofuranosylbenzimidazol DRFB die RNS-Synthese [63] und Actinomycin D die Transkription [68]. Die Beteiligung der DNS-Polymerase  $\alpha$  an der adaptiven Antwort kann durch ihren Inhibitor Arabinofuranosidcytosin [93], die der Proteinphosphatase 2A durch Okadainsäure [49], die von  $\text{Ca}^{2+}$  durch 8-(N,N-diethylamin)octyl-3,4,5-trimethoxybenzoat TMB-8 und Ethylenglycol-bis( $\beta$ -aminoethylether)N,N,N',N'-tetraessigsäure EGTA [233], die der ADP-Ribose-Cyclase durch Anti-CD38-Antikörper [231], die der p38MAPK (mitogen activated protein kinase) durch SB203580 [183] und die der PK-C, die nach ihrer Aktivierung an die Zellmembran bindet [183], durch tissue polypeptide antigen TPA, Staurosporin, Calphostin C und H7 gezeigt werden [68, 168, 232].



**Genexpression:**

- c-myc, c-fos, c-jun, c-Ha-ras → Protoonkogene
- AP-1, NF-κB, CREB, Sp1 → Transkriptionsfaktoren
- Early Growth Response 1 Gen
- bcl-2 → Apoptose ↓
- Epidermal Growth Factor Receptor → ERK 1/2 ↑ → Zellproliferation
- Replication proteine A
- Rb1, H4-Histone
- Cyclin A, Cyclin B → Zellteilungsverzögerung
- Hitzeschockproteine HSP25, 28, 70, 72
- IL-1, TNFα, PDGF, FGF
- XIP1 → zelluläre Verteidigung
- XIP2, 4, 10 → ?
- XIP5, 9 → Zellwachstum, DNS-Metabolismus, Rekombination
- XIP6, 12 → Metastasierung

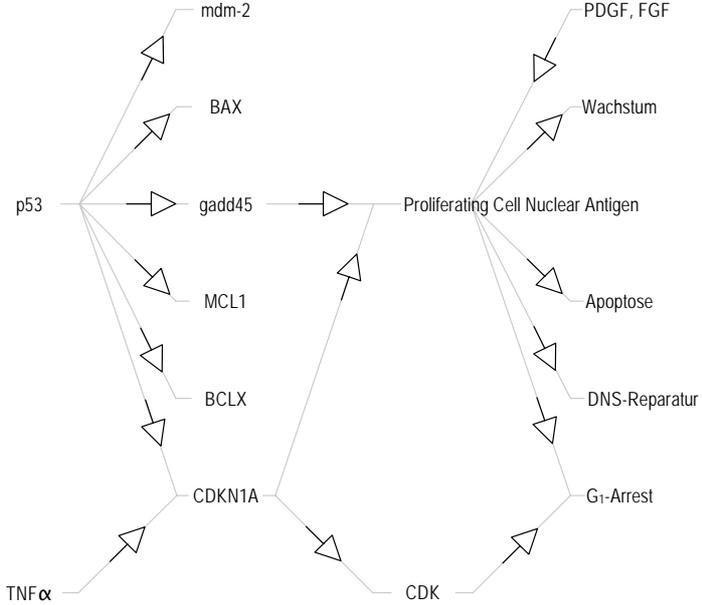


Abb.15: Schematische Darstellung der Zusammenfassung der vermuteten Mechanismen der adaptiven Antwort [erweitert nach 206, 210]

Der oben genannte Mechanismus der induzierten Radioresistenz wird erst oberhalb einer gewissen Schadensschwelle ausgelöst [26], die eventuell genauso wie die Möglichkeit der AR-Entwicklung, die auch nicht alle Zellen zeigen [3, 7, 20, 54, 58, 85, 129, 143, 159, 167, 169, 171, 179, 226, 229], genetisch determiniert ist. Ferner wird bei Lymphozyten für das Fehlen der adaptiven Antwort noch eine Altersabhängigkeit [53, 217] und transiente physiologische Parameter [134] und für eine schlechte Reproduzierbarkeit eine Zellzyklusabhängigkeit [203] verantwortlich gemacht. Unterhalb der Schwellendosis wird oft eine Hyperradiosensitivität gefunden, die v.a. radioresistente Zelllinien zeigen [78, 79, 95, 96, 97, 98, 185, 187, 215, 245]. So könnte auch die gesteigerte Zellabtötung der radioresistenten RT4-Zellen nach Vorbestrahlung mit 0,05-0,5Gy Ausdruck dieses HRS-Phänomens sein. Eine andere Erklärung wäre, dass eine derart radioresistente Zelllinie ihre Reparatur bereits maximal induziert hat und zu keiner weiteren Adaptation in der Lage ist [145].

Obwohl ein möglicher klinischer Nutzen auf der Hand liegt [126, 194], sind die Ergebnisse all dieser Niedrigdosisexperimente nur selten dafür genutzt worden, Ideen für eine verbesserte Strahlentherapie zu entwickeln. So kann auch nach intensiver Literaturrecherche keine Veröffentlichung gefunden werden, die wie diese Arbeit die Wirkung niedriger Dosen auf gesunde und Tumorzellen eines Organs (hier der Blase) vergleicht. Zumal der Unterschied  $\Delta$  der Wirkung auf normale und Tumorzellen bei 0,05Gy Vorbestrahlung am größten ist, sollte es gelingen, einen Blasentumor effektiver abzutöten und das gesunde Gewebe dabei signifikant mehr zu schonen, wenn man den Patienten 4h vor jeder 2Gy-Fraktion der Radiotherapie mit 0,05Gy bestrahlt. Diese Ergebnisse müssen allerdings zunächst noch im Tiermodell bestätigt werden.

## **6 Ausblick**

In Zukunft sollten weitere Experimente mit adaptiven Dosen durchgeführt werden, um so vielleicht die in dieser Arbeit gefundenen Grundlagen in die klinische Anwendung zu bringen. Nach Bestätigung der Ergebnisse im Tiermodell könnten im Rahmen von Studien dann auch Patienten von der Anwendung adaptiver Dosen profitieren.

Zu erwarten wäre auch, dass der Effekt der adaptiven Dosen nach mehreren Bestrahlungsfractionen noch stärker ausgeprägt ist. Aber auch dies muss erst noch in weiteren Experimenten überprüft werden.

So besteht die Möglichkeit, dass Harnblasenkarzinome besonders effektiv und tumorselektiv bestrahlt werden könnten. Durch die Anwendung kleiner adaptiver Dosen vor jeder der üblichen Fractionen könnten gesundes Gewebe geschont und somit Nebenwirkungen reduziert werden bei gleicher oder sogar effektiverer Abtötung der Tumorzellen.

## 7 Zusammenfassung

Die Herausforderung jeder modernen Strahlentherapie besteht darin, bei maximaler Tumorschädigung minimale Nebenwirkungen im gesunden Gewebe zu erzeugen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit machen deutlich, dass HCV29-Urothelzellen bei sehr niedrigen Vorbestrahlungsdosen eine radioadaptive Antwort, d.h. ein gesteigertes Zellüberleben, zeigen, wohingegen RT4-Urothelkarzinomzellen eher hyperradiosensitiv auf die adaptive Dosis reagieren. Dies gibt Anlass zu vermuten, dass in Zukunft die Anwendung adaptiver Dosen (0,05-0,1Gy) vor den üblichen Fraktionsdosen den Erfolg einer Blasenkarzinombestrahlung und vielleicht auch anderer Tumorbestrahlungen maximieren könnte.

Die Fragestellungen dieser Arbeit konnten dahingehend beantwortet werden, dass:

1. RT4-Zellen für 0,05-0,5Gy Vorbestrahlungsdosis vor der 2Gy-Folgedosis ein niedrigeres Überleben zeigen als ohne Vorbestrahlung und somit im Sinne einer Hyperradiosensitivität reagieren.
2. HCV29-Zellen für 0,05Gy und 0,1Gy Vorbestrahlungsdosis ein höheres Überleben als die nicht vorbestrahlten Kontrollen, also eine adaptive Antwort, zeigen und für 0,2Gy und 0,5Gy Vorbestrahlungsdosis mit einem geringeren Überleben reagieren.
3. HCV29- und RT4-Zellen gleichsinnige Antworten auf 0,2Gy und 0,5Gy Vorbestrahlung zeigen, auf 0,05Gy und 0,1Gy adaptive Dosis aber sehr verschieden reagieren, nämlich mit einem höheren Überleben bei HCV29- und einem niedrigeren bei RT4-Zellen.
4. sich aus den Ergebnissen die Idee eines neuen Therapiekonzeptes zur Urothelkarzinombestrahlung ableiten lässt, ein Urothelkarzinom 4h vor der 2Gy-Fraktion mit 0,05Gy vorzubestrahlen, um das gesunde Gewebe zu schonen und den Tumor besonders effektiv zu schädigen.

Insgesamt sollen die Experimente dieser Doktorarbeit, die als erste die Wirkung adaptiver Strahlendosen auf gesunde und Tumorzellen eines Organs (hier der Blase) vergleichen, der Anstoß zu weiteren klinisch orientierten Untersuchungen zu adaptiven Dosen sein. Der geschichtliche und begriffsdefinierende Überblick sowie die Zusammenfassung der

vermuteten Mechanismen sollen die Einordnung der Forschungsergebnisse und das Design weiterer Experimente ermöglichen. Letztendlich bestünde so die Möglichkeit, die vielversprechenden Ergebnisse dieser Arbeit zu bestätigen und weiter auszubauen.

## 8 Literaturverzeichnis

1. Alsbeih, G., Torres, M., Al-Harbi, N., Alsubael, M.: Loss of Wild-Type Trp53 Protein in Mouse Fibroblasts Leads to Increased Radioresistance with Consequent Decrease in Repair of Potentially Lethal Damage, in: Radiation Research, 2004, Band 161, S. 185-192
2. Amundson, S.A., Do, K.T., Fornace, A.J.: Induction of Stress Genes by Low Doses of Gamma Rays, in: Radiation Research, 1999, Band 152, S. 225-231
3. Andersson, H.C., Na Chiangmai, S.: No adaptive response of Chinese hamster ovary cells to low doses of ionizing radiation, in: Hereditas, 1992, Band 117, S. 215-222
4. Azzam, E.I., de Toledo, S.M., Raaphorst, G.P., Mitchel, R.E.J.: Low-Dose Ionizing Radiation Decreases the Frequency of Neoplastic Transformation to a Level below the Spontaneous Rate in C3H 10T1/2 Cells, in: Radiation Research, 1996, Band 146, S. 369-373
5. Azzam, E.I., Raaphorst, G.P., Mitchel, R.E.J.: Radiation-Induced Adaptive Response for Protection against Micronucleus Formation and Neoplastic Transformation in C3H 10T1/2 Mouse Embryo Cells, in: Radiation Research, 1994, Band 138, S. S28-S31
6. Bai, Y., Chen, D.: Accumulative effect of two doses of irradiation in inducing an adaptive response in human lymphocytes, in: Mutation Research, 1993, Band 302, S. 191-196
7. Bauchinger, M., Schmid, E., Braselmann, H., Nahrstedt, U.: Absence of adaptive response to low-level irradiation from tritiated thymidine and X-rays in lymphocytes of two individuals examined in serial experiments, in: Mutation Research, 1989, Band 227, S. 103-107
8. Bean, M.A., Pees, H., Fogh, J.E., Grabstald, H., Oettgen, H.F.: Cytotoxicity of lymphocytes from patients with cancer of the urinary bladder: detection by a 3H-proline microtoxicity test, in: International Journal of Cancer, 1974, Band 14, S. 186-197
9. Beck-Bornholdt, H.-P., Maurer, T., Becker, S., Omniczynski, M., Vogler, H., Würschmidt, F.: Radiotherapy of the Rhabdomyosarcoma R1H of the Rat: Hyperfractionation-126 Fractions Applied within 6 Weeks, in: International Journal of Radiation Oncology Biology and Physics, 1989, Band 16, S. 701-705
10. Belyaev, I.Ya., Spivak, I.M., Kolman, A., Harms-Ringdahl, M.: Relationship between radiation induced adaptive response in human fibroblasts and changes in chromatin conformation, in: Mutation Research, 1996, Band 358, S. 223-230
11. Bhattacharjee, D.: Role of radioadaptation on radiation-induced thymic lymphoma in mice, in: Mutation Research, 1996, Band 358, S. 231-235

12. Bhattacharjee, D., Ito, A.: Deceleration of Carcinogenic Potential by Adaptation with Low Dose Gamma Irradiation, in: *in vivo*, 2001, Band 15, S. 87-92
13. Boehringer-Wyss, N., Clarkson, S.G., Allal, A.S.: No Benefits of Ultrafractionation in Two Head-and-Neck Cancer Cell Lines with Different Inherent Radiosensitivity, in: *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics*, 2002, Band 52, S. 1099-1103
14. Boothman, D.A., Bouvard, I., Hughes, E.N.: Identification and Characterization of X-Ray-Induced Proteins in Human Cells, in: *Cancer Research*, 1989, Band 49, S. 2871-2878
15. Boothman, D.A., Majmudar, G., Johnson, T.: Immediate X-Ray-Inducible Responses from Mammalian Cells, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S44-S46
16. Boothman, D.A., Meyers, M., Fukunaga, N., Lee, S.W.: Isolation of x-ray-inducible transcripts from radioresistant human melanoma cells, in: *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 1993, Band 90, S. 7200-7204
17. Boothman, D.A., Meyers, M., Odegaard, E., Wang, M.: Altered G<sub>1</sub> checkpoint control determines adaptive survival responses to ionising radiation, in: *Mutation Research*, 1996, Band 358, S. 143-153
18. Boothman, D.A., Odegaard, E., Yang, C.-R., Hosley, K., Mendonca, M.S.: Molecular analyses of adaptive survival responses (ASRs): role of ASRs in radiotherapy, in: *Human and Experimental Toxicology*, 1998, Band 17, S. 448-453
19. Boreham, D.R., Mitchel, R.E.J.: DNA Lesions That Signal the Induction of Radioresistance and DNA Repair in Yeast, in: *Radiation Research*, 1991, Band 128, S. 19-28
20. Bosi, A., Olivieri, G.: Variability of the adaptive response to ionizing radiations in humans, in: *Mutation Research*, 1989, Band 211, S. 13-17
21. Bravard, A., Luccioni, C., Moustacchi, E., Rigaud, O.: Contribution of antioxidant enzymes to the adaptive response to ionizing radiation of human lymphoblasts, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1999, Band 75, S. 639-645
22. Cai, L.: Research of the adaptive response induced by low-dose radiation: where have we been and where should we go?, in: *Human and Experimental Toxicology*, 1999, Band 18, S. 419-425
23. Cai, L., Liu, S.Z.: Induction of cytogenetic adaptive response in somatic and germ cells by low level-exposure in vitro and in vivo to X- or  $\gamma$ -irradiation, in: Sugahara, T., Sagan, L.A., Aoyama, T.: *Low dose irradiation and biological defense mechanisms*, Excerpta Medica, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam London New York Tokyo, 1992, S. 287-290

24. Cai, L., Liu, S.-Z.: Induction of cytogenetic adaptive response of somatic and germ cells in vivo and in vitro by low-dose X-irradiation, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1990, Band 58, S. 187-194
25. Calabrese, E.J., Baldwin, L.A.: Defining hormesis, in: *Human and Experimental Toxicology*, 2002, Band 21, S. 91-97
26. Calkins, J.: An unusual form of response in X-irradiated protozoa and a hypothesis as to its origin, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1967, Band 12, S. 297-301
27. Calkins, J., Einspinner, M., Azzam, E., Kunhi, M., Sigut, D., Hannan, M.: Observations and an interpretation of dose-response relationships for cellular transformation in terms of induced (T) repair, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1991, Band 59, S. 41-51
28. Calkins, J., Einspinner, M., Blocher, D., Greer, W.: Rapid communication: Responses of two mammalian cell lines to low gamma-ray doses, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1989, Band 56, S. 869-875
29. Caney, C., Bulmer, J.T., Singh, G., Lukka, H., Rainbow, A.J.: Pre-exposure of human squamous carcinoma cells to low-doses of  $\gamma$ -rays leads to an increased resistance to subsequent low-dose cisplatin treatment, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1999, Band 75, S. 963-972
30. Chandna, S., Dwarakanath, B.S., Khaitan, D., Mathew, T.L., Jain, V.: Low-Dose Radiation Hypersensitivity in Human Tumor Cell Lines: Effects of Cell-Cell Contact and Nutritional Deprivation, in: *Radiation Research*, 2002, Band 157, S. 516-525
31. Cortés, F., Domínguez, I., Flores, M.J., Pinero, J., Mateos, J.C.: Differences in the adaptive response to radiation damage in G<sub>0</sub> human lymphocytes conditioned with hydrogen peroxide or low-dose X-rays, in: *Mutation Research*, 1994, Band 311, S. 157-163
32. Cortés, F., Domínguez, I., Mateos, S., Pinero, J., Mateos, J.C.: Evidence for an adaptive response to radiation damage in plant cells conditioned with X-rays or incorporated tritium, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1990, Band 57, S. 537-541
33. Cortés, F., Domínguez, I., Pinero, J., Mateos, J.C.: Adaptive response in human lymphocytes conditioned with hydrogen peroxide before irradiation with X-rays, in: *Mutagenesis*, 1990, Band 5, S. 555-557
34. Cregan, S.P., Boreham, D.R., Walker, P.R., Brown, D.L., Mitchel, R.E.J.: Modification of radiation-induced apoptosis in radiation- or hyperthermia-adapted human lymphocytes, in: *Biochemistry and Cell Biology*, 1994, Band 72, S. 475-482
35. Cregan, S.P., Brown, D.L., Mitchel, R.E.J.: Apoptosis and the adaptive response in human lymphocytes, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1999, Band 75, S. 1087-1094

36. Crump, K.: Evaluating the Evidence for Hormesis: A Statistical Perspective, in: *Critical Reviews in Toxicology*, 2001, Band 31, S. 669-679
37. Dasu, A., Denekamp, J.: Inducible Repair and Intrinsic Radiosensitivity: A Complex but Predictable Relationship?, in: *Radiation Research*, 2000, Band 153, S. 279-288
38. Davey, W.P.: Prolongation of Life of *Tribolium Confusum* Apparently Due to Small Doses of X-Rays, in: *The Journal of Experimental Zoology*, 1919, Band 28, S. 447-458
39. Eidus, L.Kh.: A single mechanism for the initiation of different effects of low doses of ionizing radiation (Abstract), in: *Radiats Biol Radioecol*, 1996, Band 36, S. 874-882
40. Fan, S., Vijayalaxmi, Mindek, G., Burkart, W.: Adaptive response to 2 low doses of X-rays in human blood lymphocytes, *Mutation Research*, 1990, Band 243, S. 53-56
41. Farooqi, Z., Kesavan, P.C.: Low-dose radiation-induced adaptive response in bone marrow cells of mice, in: *Mutation Research*, 1993, Band 302, S. 83-89
42. Feinendegen, L.E.: The role of adaptive responses following exposure to ionizing radiation, in: *Human and Experimental Toxicology*, 1999, Band 18, S. 426-432
43. Feinendegen, L.E., Bond, V.P., Booz, J., Mühlensiepen, H.: Biochemical and cellular mechanisms of low-dose effects, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1988, Band 53, S. 23-37
44. Feinendegen, L.E., Bond, V.P., Sondhaus, C.A., Altman, K.I.: Cellular signal adaptation with damage control at low doses versus the predominance of DNA damage at high doses, in: *C.R. Académie des Sciences Paris*, 1999, Band 322, S. 245-251
45. Feinendegen, L.E., Mühlensiepen, H., Bond, V.P., Sondhaus, C.A.: Intracellular Stimulation of Biochemical Control Mechanisms by Low-Dose, Low-LET Irradiation, in: *Health Physics*, 1987, Band 52, S. 663-669
46. Feinendegen, L.E., Mühlensiepen, H., Lindberg, C., Marx, J., Porschen, W., Booz, J.: Acute and temporary inhibition of thymidine kinase in mouse bone marrow cells after low-dose exposure, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1984, Band 45, S. 205-215
47. Feinendegen, L.E., Mühlensiepen, H., Porschen, W., Booz, J.: Acute non-stochastic effect of very low dose whole-body exposure, a thymidine equivalent serum factor, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1982, Band 41, S. 139-150
48. Fickweiler, S., Steinbach, P., Wörle, K., Hofstädter, F.: The Combined Effects of High-Energy Shock Waves and Ionising Radiation on a Human Bladder Cancer Cell Line, in: *Ultrasound in Medicine and Biology*, 1996, Band 22, S. 1097-1102

49. Filippovich, I.V., Sorokina, N.I., Robillard, N., Lisbona, A., Chatal, J.-F.: Radiation-Induced Apoptosis in Human Tumor Cell Lines: Adaptive Response and Split-Dose Effect, in: *International Journal of Cancer*, 1998, Band 77, S. 76-81
50. Fritz-Niggli, H.: Mögliche Wirkungen kleiner Strahlendosen, in: *Naturwissenschaftliche Rundschau*, 1994, Band 47, S. 85-89
51. Fritz-Niggli, H., Schaeppi-Buechi, C.: Adaptive response to dominant lethality of mature (class A) and immature (class B) oocytes of *D. melanogaster* to low doses of ionizing radiation: effects in repair-proficient (yw) and repair-deficient strains (mei 41<sup>D5</sup> and mus 302<sup>D1</sup>), in: *International Journal of Radiation Biology*, 1991, Band 59, S. 175-184
52. Frosina, G., Abbondandolo, A.: The current evidence for an adaptive response to alkylating agents in mammalian cells, with special reference to experiments with in vitro cell cultures, in: *Mutation Research*, 1985, Band 154, S. 85-100
53. Gadhia, P.K.: Possible age-dependent adaptive response to a low dose of X-rays in human lymphocytes, in: *Mutagenesis*, 1998, Band 13, S. 151-152
54. Gajendiran, N., Tanaka, K., Kumaravel, T.S., Kamada, N.: Neutron-Induced Adaptive Response Studied in G<sub>0</sub> Human Lymphocytes Using the Comet Assay, in: *Journal of Radiation Research*, 2001, Band 42, S. 91-101
55. Guo, G., Yan-Sanders, Y., Lyn-Cook, B.D., Wang, T., Tamae, D., Ogi, J., Khaletskiy, A., Li, Z., Weydert, C., Longmate, J.A., Huang, T.-T., Spitz, D.R., Oberley, L.W., Li, J.J.: Manganese Superoxide Dismutase-Mediated Gene Expression in Radiation-Induced Adaptive Responses, in: *Molecular and Cellular Biology*, 2003, Band 23, S. 2362-2378
56. Gupta, S.S., Bhattacharjee, S.B.: Induction of repair functions by hydrogen peroxide in Chinese hamster cells, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1988, Band 53, S. 935-942
57. Hagen, U., Jung, H., Streffer, C.: Radiation Research 1895-1995 Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Congress of Radiation Research, August 27-September 1, 1995, Würzburg/ Germany, 10<sup>th</sup> ICRR Society, Würzburg, 1995
58. Hain, J., Jaussi, R., Burkart, W.: Lack of adaptive response to low doses of ionizing radiation in human lymphocytes from five different donors, in: *Mutation Research*, 1992, Band 283, S. 137-144
59. Hendrikse, A.S., Hunter, A.J., Keraan, M., Blekkenhorst, G.H.: Effects of low dose irradiation on TK6 and U937 cells: induction of p53 and its role in the cell-cycle delay and the adaptive response, in: *International Journal of Radiation Biology*, 2000, Band 76, S. 11-21
60. Hildebrandt, G., Loppnow, G., Jahns, J., Hindemith, M., Anderegg, U., Saalbach, A., Kamprad, F.: Inhibition of the iNOS Pathway in Inflammatory Macrophages by Low-Dose X-Irradiation In Vitro Is There a Time Dependence?, in: *Strahlentherapie und Onkologie*, 2003, Band 179, S. 158-166

61. Hohn-Elkarim, K., Mühlensiepen, H., Altman, K.I., Feinendegen, L.E.: Modification of effects of radiation on thymidine kinase, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1990, Band 58, S. 97-110
62. Huang, H., Claycamp, H.G.: DNA excision repair as a component of adaptation to low doses of ionizing radiation *Escherichia coli*, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1993, Band 64, S. 613-619
63. Hyun, S.-J., Yoon, M.-Y., Kim, T.-H., Kim, J.-H.: Enhancement of Mitogen-Stimulated Proliferation of Low Dose Radiation-Adapted Mouse Splenocytes, in: *Anticancer Research*, 1997, Band 17, S. 225-230
64. Ibuki, Y., Hayashi, A., Suzuki, A., Goto, R.: Low-Dose Irradiation Induces Expression of Heat Shock Protein 70 mRNA and Thermo- and Radio-Resistance in Myeloid Leukemia Cell Line, in: *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 1998, Band 21, S. 434-439
65. Ikushima, T.: Chromosomal response to ionizing radiation reminiscent of an adaptive response in cultured Chinese hamster cells, in: *Mutation Research*, 1987, Band 180, S. 215-221
66. Ikushima, T.: Radio-Adaptive Response: A Novel Chromosomal Response in Chinese Hamster Cells in Vitro, in: Obe, G., Natarajan, A.T. (Eds.): *Chromosomal Aberrations Basic and Applied Aspects*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona, 1990, S. 151-162
67. Ikushima, T.: Radio-adaptive response: characterization of a cytogenetic repair induced by low-level ionizing radiation in cultured Chinese hamster cells, *Mutation Research*, 1989, Band 227, S. 241-246
68. Ikushima, T.: Radio-Adaptive Response: Involvement of Induction of Specific Gene Expression by Low Doses of Ionizing Radiation, in: Sugahara, T., Sagan, L.A., Aoyama, T.: *Low dose irradiation and biological defense mechanisms*, *Excerpta Medica*, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam London New York Tokyo, 1992, S. 255-258
69. Ikushima, T.: Radioadaptive response: responses to the five questions, in: *Human and Experimental Toxicology*, 1999, Band 18, S. 433-435
70. Ikushima, T., Aritomi, H., Morisita, J.: Radioadaptive response: Efficient repair of radiation-induced DNA damage in adapted cells, in: *Mutation Research*, 1996, Band 358, S. 193-198
71. Ishii, K., Misonoh, J.: Induction of Radio-adaptive Response by Low-dose X-irradiation on Chromosome Aberrations in Human Embryonic Fibroblasts, in: *Physiology Chemistry Physics and Medical NMR*, 1996, Band 28, S. 83-90
72. Ishii, K., Watanabe, M.: Participation of gap-junctional cell communication on the adaptive response in human cells induced by low dose of X-rays, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1996, Band 69, S. 291-299

73. Iyer, R., Lehnert, B.E.: Low dose, low LET ionising radiation-induced radioadaptation and associated early responses in unirradiated cells, in: *Mutation Research*, 2002, Band 503, S. 1-9
74. Johansson, L.: Hormesis, an update of the present position, in: *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2003, Band 30, S. 921-933
75. Joiner, M.C.: Evidence for Induced Radioresistance from Survival and Other End Points: An Introduction, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S5-S8
76. Joiner, M.C.: Induced radioresistance: an overview and historical perspective, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1994, Band 65, S. 79-84
77. Joiner, M.C., Johns, H.: Renal Damage in the Mouse: The Response to Very Small Doses per Fraction, in: *Radiation Research*, 1988, Band 114, S. 385-398
78. Joiner, M.C., Lambin, P., Malaise, E.P., Robson, T., Arrand, J.E., Skov, K.A., Marples, B.: Hypersensitivity to very-low single radiation doses: Its relationship to the adaptive response and induced radioresistance, in: *Mutation Research*, 1996, Band 358, S. 171-183
79. Joiner, M.C., Lambin, P., Marples, B.: Adaptive response and induced resistance, *C.R. Académie des Sciences Paris*, 1999, Band 322, S. 167-175
80. Joiner, M.C., Marples, B., Lambin, P., Short, S.C., Turesson, I.: Low-Dose Hypersensitivity: Current Status and Possible Mechanisms, in: *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics*, 2001, Band 49, S. 379-389
81. Kalendo, G.S., Slanina, S.V., Tyrsina, E.G., Korenkov, I.P., Bobkov, Iu.I.: Small doses of ionizing radiation as radiation modifying factor (Abstract), in: *Gig Sanit*, 2001, S.14-16
82. Kalina, I., Brezani, P., Habalova, V., Kohut, A., Biros, E., Nemethova, G., Salagovic, J.: Reciprocal Adaptive Response of Human Peripheral Lymphocytes Induced by Bleomycin or Gamma Rays, in: *Physiological Research*, 1999, Band 48, S. 171-174
83. Kavanagh, B.D., Lin, P.-S., Chen, P., Schmidt-Ullrich, R.K.: Radiation-induced Enhanced Proliferation of Human Squamous Cancer Cells in Vitro: A Release from Inhibition by Epidermal Growth Factor, in: *Clinical Cancer Research*, 1995, Band 1, S. 1557-1562
84. Kelsey, K.T., Memisoglu, A., Frenkel, D., Liber, H.L.: Human lymphocytes exposed to low doses of X-rays are less susceptible to radiation-induced mutagenesis, *Mutation Research*, 1991, Band 263, S. 197-201
85. Khandogina, E.K., Mutovin, G.R., Zvereva, S.V., Antipov, A.V., Zverev, D.O., Akifyev, A.P.: Adaptive response in irradiated human lymphocytes: radiobiological and genetical aspects, in: *Mutation Research*, 1991, Band 251, S. 181-186

86. Kim, J.-H., Hahm, K.-H., Cho, C.-K., Yoo, S.-Y.: Protein biosynthesis in Low Dose Ionizing Radiation-Adapted Human Melanoma Cells, in: *Journal of Radiation Research*, 1996, Band 37, S. 161-169
87. Kleczkowska, H.E., Althaus, F.: The role of poly(ADP-ribosyl)ation in the adaptive response, in: *Mutation Research*, 1996, Band 358, S. 215-221
88. Kondo, S.: Altruistic cell suicide in relation to radiation hormesis, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1988, Band 53, S. 95-102
89. Koppenol, W.H.: Hormesis, in: *Science Letters*, 1989, Band 20, S. 311
90. Koterov, A.N., Nikol'skii, A.V.: Molecular and cellular mechanisms of the adaptive response in eukaryotes (Abstract), in: *Ukr Biokhim Zh*, 1999, Band 71, S. 13-25
91. Koval, T.M.: Enhanced Recovery from Ionizing Radiation Damage in a Lepidopteran Insect Cell Line, in: *Radiation Research*, 1988, Band 115, S. 413-420
92. Krause, M., Baumann, M.: Hypersensitivitat nach fraktionierter Bestrahlung mit niedrigen Dosen pro Fraktion in vitro, in: *Strahlentherapie und Onkologie*, 2001, No. 12, S. 680
93. Kurihara, Y., Rienkjkarn, M., Etoh, H.: Cytogenetic Adaptive Response of Cultured Fish Cells to Low Doses of X-rays, in: *Journal of Radiation Research*, 1992, Band 33, S. 267-274
94. Lambin, P.: Hypersensitivity following low one-time irradiation dosage and induced radio resistance (Abstract), in: *Verh K Acad Geneesk d Belg*, 1997, Band 59, S. 525-550
95. Lambin, P., Coco-Martin, J., Legal, J.D., Begg, A.C., Parmentier, C., Joiner, M.C., Malaise, E.P.: Intrinsic Radiosensitivity and Chromosome Aberration Analysis Using Fluorescence In Situ Hybridization in Cells of Two Human Tumor Cell Lines, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S40-S43
96. Lambin, P., Fertil, B., Malaise, E.P., Joiner, M.C.: Multiphasic Survival Curves for Cells of Human Tumor Cell Lines: Induced Repair or Hypersensitive Subpopulation?, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S32-S36
97. Lambin, P., Malaise, E.P., Joiner, M.C.: Might intrinsic radioresistance of human tumour cells be induced by radiation?, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1996, Band 69, S. 279-290
98. Lambin, P., Malaise, E.P., Joiner, M.C.: The effect of very low radiation doses on the human bladder carcinoma cell line RT112, in: *Radiotherapy and Oncology*, 1994, Band 32, S. 63-72
99. Lambin, P., Marples, B., Fertil, B., Malaise, E.P., Joiner, M.C.: Hypersensitivity of a human tumour cell line to very low radiation doses, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1993, Band 63, S. 639-650

100. Laval, F.: Pretreatment with oxygen species increases the resistance of mammalian cells to hydrogen peroxide and  $\gamma$ -rays, in: *Mutation Research*, 1988, Band 201, S. 73-79
101. Le, X.C., Xing, J.X., Lee, J., Leadon, S.A., Weinfeld, M.: Inducible Repair of Thymine Glycol Detected by an Ultrasensitive Assay for DNA Damage, in: *Science*, 1998, Band 280, S. 1066-1069
102. Lee, Y.-J., Park, G.-H., Cho, H.-N., Cho, C.-K., Park, Y.-M., Lee, S.-J., Lee, Y.-S.: Induction of Adaptive Response by Low-Dose Radiation in RIF Cells Transfected with Hspb1 (Hsp25) or Inducible Hspa (Hsp70), in: *Radiation Research*, 2002, Band 157, S. 371-377
103. Lehnert, S. et al.: Extended Abstracts Gene Induction and Adaptive Responses in Irradiated Cells: Mechanisms and Clinical Implications, Montreal, Quebec, Canada, June 3-4, 1994, in: *Radiation Research*, 1994, Band 141, S. 108-123
104. Lehnert, S., Chow, T.Y.-K.: Low doses of ionizing radiation induce nuclear activity in human tumour cell lines which catalyses homologous double-strand recombination, in: *Radiation and Environmental Biophysics*, 1997, Band 36, S. 67-70
105. Little, J.B.: Failla Memorial Lecture Changing Views of Cellular Radiosensitivity, in: *Radiation Research*, 1994, Band 140, S. 299-311
106. Little, J.B., Azzam, E.I., de Toledo, S.M., Nagasawa, H.: Bystander Effects: Intercellular Transmission of Radiation Damage Signals, in: *Radiation Protection Dosimetry*, 2002, Band 99, S. 159-162
107. Liu, S.Z., Cai, L., Sun, S.Q.: Induction of a cytogenetic adaptive response by exposure of rabbits to very low dose-rate  $\gamma$ -radiation, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1992, Band 62, S. 187-190
108. Liu, S.-Z., Zhang, Y.-C., Mu, Y., Su, X., Liu, J.-X.: Thymocyte apoptosis in response to low-dose radiation, in: *Mutation Research*, 1996, Band 358, S. 185-191
109. Loken, M.K., Feinendegen, L.E.: Radiation Hormesis Its Emerging Significance in Medical Practice, in: *Investigative Radiology*, 1993, Band 28, S. 446-450
110. Luckey, T.D.: *Hormesis with Ionizing Radiation*, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1980
111. Macklis, R.M., Beresford, B.: Radiation Hormesis, in: *The Journal of Nuclear Medicine*, 1991, Band 32, S. 350-359
112. Makinodan, T., James, S.J.: T Cell Potentiation by Low Dose Ionizing Radiation: Possible Mechanisms, in: *Health Physics*, 1990, Band 59, S. 29-34
113. Marples, B., Adomat, H., Koch, C.J., Skov, K.A.: Response of V79 cells to low doses of X-rays and negative  $\pi$ -mesons: clonogenic survival and DNA strand breaks, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1996, Band 70, S. 429-436

114. Marples, B., Cann, N.E., Mitchell, C.R., Johnston, P.J., Joiner, M.C.: Evidence for the involvement of DNA-dependent protein kinase in the phenomena of low dose hyper-radiosensitivity and increased radioresistance, in: *International Journal of Radiation Biology*, 2002, Band 78, S. 1139-1147
115. Marples, B., Joiner, M.C.: Modification of survival by DNA repair modifiers: a probable explanation for the phenomenon of increased radioresistance, in: *International Journal of Radiation Biology*, 2000, Band 76, S. 305-312
116. Marples, B., Joiner, M.C.: The Elimination of Low-Dose Hypersensitivity in Chinese Hamster V79-379A Cells by Pretreatment with X Rays or Hydrogen Peroxide, in: *Radiation Research*, 1995, Band 141, S.160-169
117. Marples, B., Joiner, M.C.: The Response of Chinese Hamster V79 Cells to Low Radiation Doses: Evidence of Enhanced Sensitivity of the Whole Cell Population, in: *Radiation Research*, 1993, Band 133, S. 41-51
118. Marples, B., Joiner, M.C., Skov, K.A.: An X-ray inducible repair response: evidence from high resolution survival measurements in air and hypoxia, in: Sugahara, T., Sagan, L.A., Aoyama, T.: *Low dose irradiation and biological defense mechanisms*, Excerpta Medica, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam London New York Tokyo, 1992, S. 295-298
119. Marples, B., Joiner, M.C., Skov, K.A.: The Effect of Oxygen on Low-Dose Hypersensitivity and Increased Radioresistance in Chinese Hamster V79-379A Cells, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S17-S20
120. Marples, B., Lam, G.K.Y., Zhou, H., Skov, K.A.: The Response of Chinese Hamster V79-379A Cells Exposed to Negative Pi-mesons: Evidence that Increased Radioresistance Is Dependent on Linear Energy Transfer, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S81-S84
121. Marples, B., Lambin, P., Skov, K.A., Joiner, M.C.: Low dose hyper-radiosensitivity and increased radioresistance in mammalian cells, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1997, Band 71, S. 721-735
122. Marples, B., Skov, K.A.: Small Doses of High-Linear Energy Transfer Radiation Increase the Radioresistance of Chinese Hamster V79 Cells to Subsequent X Irradiation, in: *Radiation Research*, 1996, Band 146, S. 382-387
123. Masters, J.R.W., Hepburn, P.J., Walker, L., Highman, W.J., Trejdosiewicz, L.K., Povey, S., Parkar, M., Hill, B.T., Riddle, P.R., Franks, L.M.: Tissue Culture Model of Transitional Cell Carcinoma: Characterization of Twenty-two Human Urothelial Cell Lines, in: *Cancer Research*, 1986, Band 46, S. 3630-3636
124. Meyers, M., Schea, R.A., Petrowski, A.E., Seabury, H., McLaughlin, P.W., Lee, I., Lee, S.W., Boothman, D.A.: Role of X-Ray-Inducible Genes and Proteins in Adaptive Survival Responses, in: Sugahara, T., Sagan, L.A., Aoyama, T.: *Low dose irradiation and biological defense mechanisms*, Excerpta Medica, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam London New York Tokyo, 1992, S. 263-266

125. Mossman, K.L.: Deconstructing Radiation Hormesis, in: Health Physics, 2001, Band 80, S. 263-269
126. Mossman, K.L., Ledesma, L.M.: Radiation exposure and adaptive processes, in: Human and Experimental Toxicology, 1999, Band 18, S. 436-439
127. Mothersill, C., Harney, J., Lyng, F., Cottell, D., Parson, K., Murphy, D.M., Seymour, C.B.: Primary Explants of Human Uroepithelium Show an Unusual Response to Low-Dose Irradiation with Cobalt-60 Gamma Rays, in: Radiation Research, 1995, Band 142, S. 181-187
128. Mothersill, C., Seymour, C.B., Joiner, M.C.: Relationship between Radiation-Induced Low-Dose Hypersensitivity and the Bystander Effect, in: Radiation Research, 2002, Band 157, S. 526-532
129. Müller, W.-U., Streffer, C., Niedereichholz, F.: Adaptive response in mouse embryos?, in: International Journal of Radiation Biology, 1992, Band 62, S. 169-175
130. Ojima, M., Ishii, K., Hayashi, T., Ito, A.: Induction of Radio-adaptive Response in Colony Formation by Low Dose X-ray Irradiation, in: Physiology Chemistry Physics and Medical NMR, 2001, Band 33, S. 41-48
131. Okamoto, K.: Critical Values of Linear Energy Transfer, Dose Rates and Doses for Radiation Hormesis, in: Health Physics, 1987, Band 52, S. 671-674
132. Olivieri, G.: Adaptive response and its relationship to Hormesis and low dose cancer risk estimation, in: Human and Experimental Toxicology, 1999, Band 18, S. 440-442
133. Olivieri, G., Bodycote, J., Wolff, S.: Adaptive Response of Human Lymphocytes to Low Concentrations of Radioactive Thymidine, in: Science, 1984, Band 223, S. 594-597
134. Olivieri, G., Bosi, A.: Possible Causes of Variability of the Adaptive Response in Human Lymphocytes, in: Obe, G., Natarajan, A.T. (Eds.): Chromosomal Aberrations Basic and Applied Aspects, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona, 1990, S. 130-139
135. Park, S.-H., Lee, S.-J., Chung, H.-Y., Kim, T.-H., Cho, C.-K., Yoo, S.-Y., Lee, Y.-S.: Inducible Heat-Shock Protein 70 Is Involved in the Radioadaptive Response, in: Radiation Research, 2000, Band 153, S. 318-326
136. Parkhomenko, I.M., Periscvili, G., Turovetskii, V., Raev, B., Lubov, D., Brovko, Y., Kudrjascov, Y., Rubin, A.: Molecular-cellular Mechanisms of Low Doses Biological Action: Effects on the Systems of Cell Regulation and the Ways of the Low Doses Early Detection, in: Sugahara, T., Sagan, L.A., Aoyama, T.: Low dose irradiation and biological defense mechanisms, Excerpta Medica, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam London New York Tokyo, 1992, S. 423-425
137. Parsons, P.A.: Radiation Hormesis: an ecological and energetic perspective, in: Medical Hypotheses, 2001, Band 57, S. 277-279

138. Parsons, P.A.: Radiation Hormesis: Challenging LNT Theory via Ecological and Evolutionary Considerations, in: *Health Physics*, 2002, Band 82, S. 513-516
139. Pollycove, M., Feinendegen, L.E.: Biologic Responses to Low Doses of Ionizing Radiation: Detriment Versus Hormesis Part 2. Dose Responses of Organisms, in: *The Journal of Nuclear Medicine*, 2001, Band 42, S. 26N-32N
140. Powell, S., McMillan, T.J.: DNA damage and repair following treatment with ionizing radiation, in: *Radiotherapy and Oncology*, 1990, Band 19, S. 95-108
141. Prasad, A.V., Mohan, N., Chandrasekar, B., Meltz, M.L.: Activation of Nuclear Factor  $\kappa$ B in Human Lymphoblastoid Cells by Low-Dose Ionizing Radiation, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. 367-372
142. Prasad, A.V., Mohan, N., Chandrasekar, B., Meltz, M.L.: Induction of Transcription of "Immediate Early Genes" by Low-Dose Ionizing Radiation, in: *Radiation Research*, 1995, Band 143, S. 263-272
143. Pretazzoli, V., Salone, B., Bosi, A., Olivieri, G.: Variability of G<sub>2</sub> checkpoint sensitivity to low doses of X-rays (2 cGy): correlation with G<sub>2</sub> chromatid aberrations but not with an adaptive response, in: *Mutagenesis*, 2000, Band 15, S. 531-535
144. Raaphorst, G.P., Boyden, S.: Adaptive response and its variation in human normal and tumour cells, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1999, Band 75, S. 865-873
145. Raaphorst, G.P., Ng, C.E., Smith, D., Niedbala, M.: Evidence for Adaptive Response and Implication in Pulse-Stimulated Low-Dose-Rate Radiotherapy, in: *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics*, 2000, Band 48, S.1139-1144
146. Rand, A., Koval, T.M.: Coordinate Regulation of Proteins Associated with Radiation Resistance in Cultured Insect Cells, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S13-S16
147. Redpath, J.L., Antoniono, R.J.: Induction of an Adaptive Response against Spontaneous Neoplastic Transformation In Vitro by Low-Dose Gamma Radiation, in: *Radiation Research*, 1998, Band 149, S. 517-520
148. Redpath, J.L., Liang, D., Taylor, T.H., Christie, C., Elmore, E.: The Shape of the Dose-Response Curve for Radiation-Induced Neoplastic Transformation In Vitro: Evidence for an Adaptive Response against Neoplastic Transformation at Low Doses of Low-LET Radiation, in: *Radiation Research*, 2001, Band 156, S. 700-707
149. Redpath, J.L., Short, S.C., Woodcock, M., Johnston, P.J.: Low-Dose Reduction in Transformation Frequency Compared to Unirradiated Controls: The Role of Hyper-radiosensitivity to Cell Death, in: *Radiation Research*, 2003, Band 159, S. 433-436
150. Rigaud, O.: The adaptive response to ionizing radiation: low dose effects unpredictable from high dose experiments, in: *Human and Experimental Toxicology*, 1999, Band 18, S. 443-446

151. Rigaud, O., Laquerbe, A., Moustacchi, E.: DNA Sequence Analysis of HPRT Mutants Induced in Human Lymphoblastoid Cells Adapted to Ionizing Radiation, in: *Radiation Research*, 1995, Band 144, S. 181-189
152. Rigaud, O., Moustacchi, E.: Radioadaptation for gene mutation and the possible molecular mechanisms of the adaptive response, in: *Mutation Research*, 1996, Band 358, S. 127-134
153. Rigaud, O., Moustacchi, E.: Radioadaptation to the Mutagenic Effect of Ionizing Radiation in Human Lymphoblasts: Molecular Analysis of HPRT Mutants, in: *Cancer Research*, 1994, Band 54, S. 1924s-1928s
154. Rigaud, O., Papadopoulo, D., Moustacchi, E.: Decreased Deletion Mutation in Radioadapted Human Lymphoblasts, in: *Radiation Research*, 1993, Band 133, S. 94-101
155. Rigby, C.C., Franks, L.M.: A Human Tissue Culture Cell Line from a Transitional Cell Tumour of the Urinary Bladder: Growth, Chromosome Pattern and Ultrastructure, in: *British Journal of Cancer*, 1970, Band 24, S. 746-754
156. Robson, T., Joiner, M.C., Wilson, G.D., McCullough, W., Price, M.E., Logan, I., Jones, H., McKeown, S.R., Hirst, D.G.: A Novel Human Stress Response-Related Gene with a Potential Role in Induced Radioresistance, in: *Radiation Research*, 1999, Band 152, S. 451-461
157. Robson, T.A., Lohrer, H., Bailie, J.R., Hirst, D.G., Joiner, M.C., Arrand, J.E.: Gene regulation by low-dose ionizing radiation in a normal human lung epithelial cell line, in: *Biochemical Society Transactions*, 1997, Band 25, S. 335-341
158. Ruiz de Almodóvar, J.M., Bush, C., Peacock, J.H., Steel, G.G., Whitaker, S.J., McMillan, T.J.: Dose-Rate Effect for DNA Damage Induced by Ionizing Radiation in Human Tumor Cells, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S93-S96
159. Ryabchenko, N.I., Antoshchina, M.M., Fesenko, E.V., Ivanova, T.I., Kondrashova, T.V., Nasonova, V.A.: Cytogenetic adaptive response in cultured human lymphocytes: dependence on the time of exposure to adapting and challenging doses of  $\gamma$ -rays, in: *Mutation Research*, 1998, Band 418, S. 7-19
160. Sadekova, S., Lehnert, S., Chow, T.Y.-K.: Induction of PBP74/mortalin/Grp75, a member of the hsp70 family, by low doses of ionizing radiation: a possible role in induced radioresistance, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1997, Band 72, S. 653-660
161. Sagan, L.A.: What is Hormesis and Why haven't we Heard about it Before?, in: *Health Physics*, 1987, Band 52, S. 521-525
162. Salone, B., Grillo, R., Aillaud, M., Bosi, A., Olivieri, G.: Effects of low-dose (2 cGy) X-ray on cell-cycle kinetics and on induced mitotic delay in human lymphocyte, in: *Mutation Research*, 1996, Band 351, S. 193-197

163. Salone, B., Pretazzoli, V., Bosi, A., Olivieri, G.: Interaction of low-dose irradiation with subsequent mutagenic treatment: role of mitotic delay, in: *Mutation Research*, 1996, Band 358, S. 155-160
164. Samson, L., Cairns, J.: A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli*, in: *Nature*, 1977, Band 267, S. 281-282
165. Samson, L., Schwartz, J.L.: Evidence for an adaptive DNA repair pathway in CHO and human skin fibroblast cell lines, in: *Nature*, 1980, Band 287, S. 861-863
166. Sanderson, B.J.S., Morley, A.A.: Exposure of human lymphocytes to ionizing radiation reduces mutagenesis by subsequent ionizing radiation, in: *Mutation Research*, 1986, Band 164, S. 247-351
167. Sankaranarayanan, K., v. Duyn, A., Loos, M.J., Natarajan, A.T.: Adaptive response of human lymphocytes to low-level radiation from radioisotopes or X-rays, in: *Mutation Research*, 1989, Band 211, S. 7-12
168. Sasaki, M.S.: On the reaction kinetics of the radioadaptive response in cultured mouse cells, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1995, Band 68, S. 281-291
169. Sasaki, M.S., Ejima, Y., Tachibana, A., Yamada, T., Ishizaki, K., Shimizu, T., Nomura, T.: DNA damage response pathway in radioadaptive response, in: *Mutation Research*, 2002, Band 504, S. 101-118
170. Sawant, S.G., Randers-Pehrson, G., Metting, N.F., Hall, E.J.: Adaptive Response and the Bystander Effect Induced by Radiation in C3H 10T1/2 Cells in Culture, in: *Radiation Research*, 2001, Band 156, S.177-180
171. Schmid, E., Bauchinger, M., Nahrstedt, U.: Adaptive response after X-irradiation of human lymphocytes? , in: *Mutagenesis*, 1989, Band 4, S. 87-89
172. Schwartz, J.L.: The Role of Constitutive and Inducible Processes in the Response of Human Squamous Cell Carcinoma Cell Lines to Ionizing Radiation, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S37-S39
173. Seong, J., Kim, S.H., Pyo, H.R., Chung, E.J., Suh, C.O.: Effect of low-dose irradiation on induction of an apoptotic adaptive response in the murine system, in: *Radiation Environmental Biophysics*, 2001, Band 40, S. 335-339
174. Seong, J., Suh, C.O., Kim, G.E.: Adaptive Response to Ionizing Radiation Induced by Low Doses of Gamma Rays in Human Cell Lines, in: *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics*, 1995, Band 33, S. 869-874
175. Seymour, C.B., Mothersill, C.: Relative Contribution of Bystander and Targeted Cell Killing to the Low-Dose Region of the Radiation Dose-Response Curve, in: *Radiation Research*, 2000, Band 153, S. 508-511
176. Shadley, J.D.: Chromosomal Adaptive Response in Human Lymphocytes, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S9-S12

177. Shadley, J.D., Afzal, V., Wolff, S.: Characterization of the Adaptive Response to Ionizing Radiation Induced by Low Doses of X Rays to Human Lymphocytes, in: *Radiation Research*, 1987, Band 111, S. 511-517
178. Shadley, J.D., Dai, G.: Cytogenetic and survival adaptive responses in G<sub>1</sub> phase human lymphocytes, in: *Mutation Research*, 1992, Band 265, S. 273-281
179. Shadley, J.D., Dai, G.: Evidence that the adaptive response of human lymphocytes to ionizing radiation acts on lethal damage in nonaberrant cells, in: *Mutation Research*, 1993, Band 301, S. 171-176
180. Shadley, J.D., Dai, G.: Low Dose X-Ray-Induced Cytogenetic Adaptive Response In Human Lymphocytes, in: Sugahara, T., Sagan, L.A., Aoyama, T.: *Low dose irradiation and biological defense mechanisms*, Excerpta Medica, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam London New York Tokyo, 1992, S. 283-286
181. Shadley, J.D., Wiencke, J.K.: Induction of the adaptive response by X-rays is dependent on radiation intensity, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1989, Band 56, S. 107-118
182. Shadley, J.D., Wolff, S.: Very low doses of X-rays can cause human lymphocytes to become less susceptible to ionising radiation, in: *Mutagenesis*, 1987, Band 2, S. 95-96
183. Shimizu, T., Kato, T., Tachibana, A., Sasaki, M.S.: Coordinated Regulation of Radioadaptive Response by Protein Kinase C and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase, in: *Experimental Cell Research*, 1999, Band 251, S. 424-432
184. Shmakova, N.L., Fadeeva, T.A., Nasonova, E.A., Krasavin, E.A., Rzianina, A.: Cytogenetic effects of low doses of radiation in mammalian cells: analysis of the hypersensitivity phenomenon and induced resistance (Abstract), in: *Radiats Biol Radioecol*, 2002, Band 42, S. 245-250
185. Short, S., Mayes, C., Woodcock, M., Johns, H., Joiner, M.C.: Low dose hypersensitivity in the T98G human glioblastoma cell line, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1999, Band 75, S. 847-855
186. Short, S.C., Kelly, J., Mayes, C.R., Woodcock, M., Joiner, M.C.: Low-dose hypersensitivity after fractionated low-dose irradiation in vitro, in: *International Journal of Radiation Biology*, 2001, Band 77, S. 655-664
187. Short, S.C., Mitchell, S.A., Boulton, P., Woodcock, M., Joiner, M.C.: The response of human glioma cell lines to low-dose radiation exposure, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1999, Band 75, S. 1341-1348
188. Short, S.C., Woodcock, M., Marples, B., Joiner, M.C.: Effects of cell cycle phase on low-dose hyper-radiosensitivity, in: *International Journal of Radiation Biology*, 2003, Band 79, S. 99-105

189. Singh, B., Arrand, J.E., Joiner, M.C.: Hypersensitive response of normal human lung epithelial cells at low radiation doses, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1994, Band 65, S. 457-464
190. Skarsgard, L.D., Harrison, I., Durand, R.E.: The Radiation Response of Asynchronous Cells at Low Dose: Evidence of Substructure, in: *Radiation Research*, 1991, Band 127, S. 248-256
191. Skarsgard, L.D., Skwarchuk, M.W., Wouters, B.G.: The Survival of Asynchronous V79 Cells at Low Radiation Doses: Modeling the Response of Mixed Cell Populations, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S72-S75
192. Skarsgard, L.D., Skwarchuk, M.W., Wouters, B.G., Durand, R.E.: Substructure in the Radiation Survival Response at Low Dose in Cells of Human Tumor Cell Lines, in: *Radiation Research*, 1996, Band 146, S. 388-398
193. Skov, K.A.: Molecular, Cellular, and Genetic Basis of Radiosensitivity at Low Doses: A Case of Inducible Repair?, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S1-S4
194. Skov, K.A.: Perspectives on the adaptive response from studies on the response to low radiation doses (or to cisplatin) in mammalian cells, in: *Human and Experimental Toxicology*, 1999, Band 18, S. 447-451
195. Skov, K.A.: Radioresponsiveness at low doses: hyper-radiosensitivity and increased radioresistance in mammalian cells, in: *Mutation Research*, 1999, Band 430, S. 241-253
196. Skov, K., Koch, C., Marples, B.: Further Investigations into the Nature of the Trigger of Increased Radioresistance: The Effect of <sup>14</sup>C and <sup>3</sup>H Thymidine on Low Dose Hypersensitivity, in: Fuciarelli, A.F., Zimbrick, J.D. (Eds.): *Radiation Damage in DNA: Structure/Function Relationships at Early Times*, Battelle Press, Columbus, Richland
197. Skov, K., Marples, B.: Increased Radioresistance at Clinical Doses: Investigations From the Survival Perspective, in: *Radiation Oncology Investigations*, 1995, Band 2, S. 201-211
198. Skov, K.A., Marples, B., Matthews, J.B., Joiner, M.C., Zhou, H.A.: A Preliminary Investigation into the Extent of Increased Radioresistance or Hyper-radiosensitivity in Cells of Hamster Cell Lines Known to Be Deficient in DNA Repair, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S126-S129
199. Skov, K.A., Zhou, H., Marples, B.: The Effect of Two Topoisomerase Inhibitors on Low-Dose Hypersensitivity and Increased Radioresistance in Chinese Hamster V79 Cells, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S117-S120
200. Smith, B.P., Gale, K.L., Einspenner, M., Greenstock, C.L., Gentner, N.E.: Stimulated Human Fibroblast Cell Survival/Clonogenicity in Response to Low Doses of Ionizing Radiation, in: Sugahara, T., Sagan, L.A., Aoyama, T.: *Low dose*

- irradiation and biological defense mechanisms, Excerpta Medica, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam London New York Tokyo, 1992, S. 299-302
201. Smith, L.G., Miller, R.C., Richards, M., Brenner, D.J., Hall, E.J.: Investigation of Hypersensitivity to Fractionated Low-Dose Radiation Exposure, in: International Journal of Radiation Oncology Biology and Physics, 1999, Band 45, S. 187-191
  202. Smith-Sonneborn, J.: The Role of the "Stress Protein Response" in Hormesis, in: Sugahara, T., Sagan, L.A., Aoyama, T.: Low dose irradiation and biological defense mechanisms, Excerpta Medica, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam London New York Tokyo, 1992, S. 399-404
  203. Sorensen, K.J., Attix, C.M., Christian, A.T., Wyrobek, A.J., Tucker, J.D.: Adaptive response induction and variation in human lymphoblastoid cell lines, in: Mutation Research, 2002, Band 519, S. 15-24
  204. Spadinger, I., Marples, B., Matthews, J., Skov, K.: Can Colony Size Be Used to Detect Low-Dose Effects?, in: Radiation Research, 1994, Band 138, S. S21-S24
  205. Spitkovskii, D.M., Kuz'mina, I.V.: Theoretical and experimental approach to the problem of changes in functional capability of cells under the effects of adaptive doses of ionizing radiation (Abstract), in: Radiats Biol Radioecol, 2001, Band 41, S. 599-605
  206. Stecca, C., Gerber, G.B.: Adaptive Response to DNA-Damaging Agents A Review of Potential Mechanisms, in: Biochemical Pharmacology, 1998, Band 55, S. 941-951
  207. Suzuki, K., Kodama, S., Watanabe, M.: Extremely Low-Dose Ionizing Radiation Causes Activation of Mitogen-activated Protein Kinase Pathway and Enhances Proliferation of Normal Human Diploid Cells, in: Cancer Research, 2001, Band 61, S. 5396-5401
  208. Suzuki, K., Kodama, S., Watanabe, M.: Suppressive Effect of Low-Dose Preirradiation on Genetic Instability Induced by X Rays in Normal Human Embryonic Cells, in: Radiation Research, 1998, Band 150, S. 656-662
  209. Svistuneko, D.A., Ju, G.Z., Wei, J., Zhang, J.S., Liu, S.Z.: EPR study of mouse tissues in search for adaptive responses to low level whole-body X-irradiation, in: International Journal of Radiation Biology, 1992, Band 62, S. 327-336
  210. Szumiel, I.: Monitoring and Signaling of Radiation-Induced Damage in Mammalian Cells, in: Radiation Research, 1998, Band 138 (Suppl.), S. S92-S101
  211. Trott, K.-R., Kamprad, F.: Radiobiological mechanisms of anti-inflammatory radiotherapy, in: Radiotherapy and Oncology, 1999, Band 51, S.197-203
  212. Tuschl, H., Altmann, H., Kovac, R., Topaloglou, A., Egg, D., Günther, R.: Effects of Low-Dose Radiation on Repair Processes in Human Lymphocytes, in: Radiation Research, 1980, Band 81, S. 1-9

213. Ueno, A.M., Vannais, D.B., Gustafson, D.L., Wong, J.C., Waldren, C.A.: A low, adaptive dose of gamma-rays reduced the number and altered the spectrum of S1<sup>-</sup> mutants in human-hamster hybrid A<sub>L</sub> cells, in: *Mutation Research*, 1996, Band 358, S. 161-169
214. Upton, A.C.: Radiation Hormesis: Data and Interpretations, in: *Critical Reviews in Toxicology*, 2001, Band 31, S. 681-695
215. Vaganay-Juéry, S., Muller, C., Marangoni, E., Abdulkarim, B., Deutsch, E., Lambin, P., Calsou, P., Eschwege, F., Salles, B., Joiner, M., Bourhis, J.: Decreased DNA-PK activity in human cancer cells exhibiting hypersensitivity to low-dose irradiation, in: *British Journal of Cancer*, 2000, Band 83, S. 514-518
216. van Wyngaarden, K.E., Pauwels, E.K.J.: Hormesis: are low doses of ionizing radiation harmful or beneficial?, in: *European Journal of Nuclear Medicine*, 1995, Band 22, S. 481-486
217. Venkat, S., Apte, S.K., Chaubey, R.C., Chauhan, P.S.: Radioadaptive Response in Human Lymphocytes in Vitro, in: *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 2001, Band 20, S. 165-175
218. Vijayalaxmi, Leal, B.Z., Deahl, T.S., Meltz, M.L.: Variability in adaptive response to low dose radiation in human blood lymphocytes: consistent results from chromosome aberrations and micronuclei, in: *Mutation Research*, 1995, Band 348, S. 45-50
219. Waldren, C.A.: Summary and comments, in: *Human and Experimental Toxicology*, 1999, Band 18, S. 452-453
220. Wang, B., Ohyama, H., Haginoya, K., Odaka, T., Itsukaichi, H., Yukawa, O., Yamada, T., Hayata, I.: Adaptive Response in Embryogenesis. III. Relationship to Radiation-Induced Apoptosis and Trp53 Gene Status, in: *Radiation Research*, 2000, Band 154, S. 277-282
221. Wang, Z.-Q., Saigusa, S., Sasaki, M.S.: Adaptive response to chromosome damage in cultured human lymphocytes primed with low doses of X-rays, in: *Mutation Research*, 1991, Band 246, S. 179-186
222. Webster, E.W.: Hormesis and Radiation Protection, in: *Investigative Radiology*, 1993, Band 28, S. 451-453
223. Wiencke, J.K.: Nicotinamide Deficiency in Human Lymphocytes Prevents the [<sup>3</sup>H]Thymidine-Induced Adaptive Response for the Repair of X-Ray-Induced Chromosomal Damage, in: *Experimental Cell Research*, 1987, Band 171, S.518-523
224. Wiencke, J.K., Afzal, V., Olivieri, G., Wolff, S.: Evidence that the [<sup>3</sup>H]thymidine-induced adaptive response of human lymphocytes to subsequent doses of X-rays involves the induction of a chromosomal repair mechanism, in: *Mutagenesis*, 1986, Band 1, S. 375-380

225. Withers, H.R., Peters, L.J., Thames, H.D., Fletcher, G.H.: Hyperfractionation, in: *International Journal of Radiation Oncology Biology and Physics*, 1982, Band 8, S. 1807-1809
226. Wojcik, A., Bonk, K., Müller, W.-U., Streffer, C., Weissenborn, U., Obe, G.: Absence of adaptive response to low doses of X-rays in preimplantation embryos and spleen lymphocytes of an inbred mouse strain as compared to human peripheral lymphocytes: a cytogenetic study, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1992, Band 62, S. 177-186
227. Wojcik, A., Sauer, K., Zölzer, F., Bauch, T., Müller, W.-U.: Analysis of DNA damage recovery processes in the adaptive response to ionizing radiation in human lymphocytes, in: *Mutagenesis*, 1996, Band 11, S. 291-297
228. Wojcik, A., Streffer, C.: Adaptive Response to Ionizing Radiation in Mammalian Cells: a Review, in: *Biologisches Zentralblatt*, 1994, Band 113, S. 417-434
229. Wojcik, A., Streffer, C.: Application of a multiple fixation regimen to study the adaptive response to ionizing radiation in lymphocytes of two human donors, in: *Mutation Research*, 1995, Band 326, S. 109-116
230. Wojcik, A., Tuschl, H.: Indications of an adaptive response in C57BL mice pre-exposed in vivo to low doses of ionizing radiation, *Mutation Research*, 1990, Band 243, S. 67-73
231. Wojewódzka, M., Kruszewski, M., Szumiel, I.: Anti-CD38 prevents the development of the adaptive response induced by X-rays in human lymphocytes, in: *Mutagenesis*, 1996, Band 11, S. 593-596
232. Wojewodzka, M., Kruszewski, M., Szumiel, I.: Effect of signal transduction inhibition in adapted lymphocytes: micronuclei frequency and DNA repair, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1997, Band 71, S. 245-252
233. Wojewodzka, M., Walicka, M., Sochanowicz, B., Szumiel, I.: Calcium antagonist, TMB-8, prevents the induction of adaptive response by hydrogen peroxide or X-rays in human lymphocytes, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1994, Band 66, S. 99-109
234. Wolff, S.: Adaptation to Ionizing Radiation Induced by Prior Exposure to Very Low Doses, in: *Chinese Medical Journal*, 1994, Band 107, S. 425-430
235. Wolff, S.: Aspects of the adaptive response to very low doses of radiation and other agents, in: *Mutation Research*, 1996, Band 358, S. 135-142
236. Wolff, S.: Failla Memorial Lecture Is Radiation All Bad? The Search for Adaptation, in: *Radiation Research*, 1992, Band 131, S. 117-123
237. Wolff, S.: Low-dose exposure and the induction of adaptation, in: Sugahara, T., Sagan, L.A., Aoyama, T.: *Low dose irradiation and biological defense mechanisms*, Excerpta Medica, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam London New York Tokyo, 1992, S. 21-28

238. Wolff, S., Afzal, V., Wiencke, J.K., Olivieri, G., Michaeli, A.: Human lymphocytes exposed to low doses of ionizing radiations become refractory to high doses of radiation as well as to chemical mutagens that induce double-strand breaks in DNA, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1988, Band 53, S. 39-48
239. Wolff, S., Jostes, R., Cross, F.T., Hui, T.E., Afzal, V., Wiencke, J.K.: Adaptive response of human lymphocytes for the repair of radon-induced chromosomal damage, in: *Mutation Research*, 1991, Band 250, S. 299-306
240. Wolff, S., Olivieri, G., Afzal, V.: Adaptation of Human Lymphocytes to Radiation or Chemical Mutagens: Differences in Cytogenetic Repair, in: Obe, G., Natarajan, A.T. (Eds.): *Chromosomal Aberrations Basic and Applied Aspects*, Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hongkong Barcelona, 1990, S. 140-150
241. Wolff, S., Wiencke, J.K., Afzal, V., Youngblom, J., Cortés, F.: The adaptive response of human lymphocytes to very low doses of ionizing radiation: A case of induced chromosomal repair with the induction of specific proteins, in: Baverstock, K.F., Stather, J.W. (Eds.): *Low Dose Radiation: Biological Bases of Risk Assessment*, Taylor & Francis, London New York Philadelphia, 1989, S. 446-454
242. Woloschak, G.E., Chang-Liu, C.-M.: Effects of low-dose radiation on gene expression in Syrian hamster embryo cells: comparison of JANUS neutrons and gamma rays, in: Sugahara, T., Sagan, L.A., Aoyama, T.: *Low dose irradiation and biological defense mechanisms*, Excerpta Medica, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam London New York Tokyo, 1992, S. 239-242
243. Woloschak, G.E., Chang-Liu, C.-M., Jones, P.S., Jones, C.A.: Modulation of Gene Expression in Syrian Hamster Embryo Cells following Ionizing Radiation, in: *Cancer Research*, 1990, Band 50, S. 339-344
244. Wouters, B.G., Skarsgard, L.D.: The Response of a Human Tumor Cell Line to Low Radiation Doses: Evidence of Enhanced Sensitivity, in: *Radiation Research*, 1994, Band 138, S. S76-S80
245. Wouters, B.G., Sy, A.M., Skarsgard, L.D.: Low-Dose Hypersensitivity and Increased Radioresistance in a Panel of Human Tumor Cell Lines with Different Radiosensitivity, in: *Radiation Research*, 1996, Band 146, S. 399-413
246. Yamaoka, K., Sato, E.F., Utsumi, K.: Induction of Two Species of Superoxide Dismutase in Some Organs of Rats by Low Dose X-Irradiation, in: *Physiology Chemistry Physics and Medical NMR*, 1994, Band 26, S. 205-214
247. Yonezawa, M., Takeda, A., Misonoh, J.: Acquired Radioresistance after Low Dose X-Irradiation in Mice, in: *Journal of Radiation Research*, 1990, Band 31, S. 256-262
248. Yoshida, N., Imada, H., Kunugita, N., Norimura, T.: Low Dose Radiation-Induced Adaptive Survival Response in Mouse Spleen T-lymphocytes in vivo, in: *Journal of Radiation Research*, 1993, Band 34, S. 269-276

249. Youngblom, J.H., Wiencke, J.K., Wolff, S.: Inhibition of the adaptive response of human lymphocytes to very low doses of ionising radiation by the protein synthesis inhibitor cycloheximide, in: *Mutation Research*, 1989, Band 227, S. 257-261
250. Yukawa, O., Nakajima, T., Yukawa, M., Ozawa, T., Yamada, T.: Induction of radical scavenging ability and protection against radiation-induced damage to microsomal membranes following low-dose irradiation, in: *International Journal of Radiation Biology*, 1999, Band 75, S. 1189-1199
251. Zhang, L.: Cytogenetic adaptive response induced by pre-exposure in human lymphocytes and marrow cells of mice, in: *Mutation Research*, 1995, Band 334, S. 33-37
252. Zhou, P.K., Liu, W.Y., Sun, W.Z., Zhang, Y.P., Wei, K.: Cultured mouse SR-1 cells exposed to low dose of  $\gamma$ -rays become less susceptible to the induction of mutagenesis by radiation as well as bleomycin, in: *Mutagenesis*, 1993, Band 8, S. 109-111
253. Zhou, P.-K., Sun, W.-Z., Liu, X.-Y., Zhang, Y.-P., Wei, K.: Adaptive Response of Mutagenesis and DNA Double Strand Break Repair in Mouse Cells Induced by Low Dose of  $\gamma$ -Ray, in: Sugahara, T., Sagan, L.A., Aoyama, T.: *Low dose irradiation and biological defense mechanisms*, Excerpta Medica, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam London New York Tokyo, 1992, S. 271-274
254. Zhou, P.K., Xiang, X.Q., Sun, W.Z., Liu, X.Y., Zhang, Y.P., Wei, K.: Adaptive response to mutagenesis and its molecular basis in a human T-cell leukaemia line primed with a low dose of  $\gamma$ -rays, in: *Radiation and Environmental Biophysics*, 1994, Band 33, S. 211-217

## 9 Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Name: Schwarz  
Vornamen: Silke Birgit  
Geburtsdatum: 22.4.1979  
Geburtsort: München  
Anschrift: Glockenstr. 14  
82110 Germering  
Familienstand: ledig

### Schulbildung:

1985 bis 1989 Kleinfeldschule, Germering  
1989 bis 1998 Carl-Spitzweg-Gymnasium, Germering / Abiturnote 1,0,  
Facharbeit über Beschleunigte Ionen in der Medizin / 1. Preis  
des Carl Friedrich von Martius Umweltpreises der GSF

### Hochschulbildung:

1998 bis 2004 Ludwig-Maximilians-Universität, München: Studiengang  
Medizin  
1999 bis 2004 Doktorarbeit in der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie  
und Radioonkologie des Klinikums Großhadern bei Prof. Dr.  
med. E. Dühmke über den Vergleich der Wirkung verschiedener  
radioadaptiver Dosen auf HCV29- und RT4-Zellen  
2000 Ärztliche Vorprüfung / Note 1,66  
2001 Famulatur in der Inneren Medizin im Klinikum Großhadern  
2001 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung / Note 2,0  
2001 Famulatur in der Strahlentherapie im AK St. Georg, Hamburg  
2002 Famulatur in der Anästhesie im Kreiskrankenhaus MALLERSDORF  
2002 Famulatur in der Orthopädie in der Praxis Dr. Parzinger,  
Planegg  
2002 Famulatur in der Urologie im Kreiskrankenhaus MALLERSDORF

2003	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung / Note 2,0
2003 bis 2004	Praktisches Jahr: Innere Medizin: Kantonsspital St. Gallen, Schweiz Strahlentherapie: Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie des Klinikums Großhadern Loma Linda University Hospital, USA Chirurgie: Chirurgische Klinik des Klinikums Großhadern
2004	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung / Note 2,0

### **Berufliche Nebentätigkeit, Zusatzqualifikationen und Fortbildungen:**

1998/1999	Vorlesung Medizinphysik
1999 bis 2002	Teilnahme, dann Leitung der Blockveranstaltung „Ethische Konflikte im ärztlichen Alltag“
2000	Studentische Hilfskraft in der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie des Klinikums Großhadern
2001	Trainingskurs POL in Frauenchiemsee
2001	XII. Neurologisches Kolloquium im Bezirkskrankenhaus Haar, Neurologie und Bewußtsein
2001	Patientenforum – Kommunikation im Krankenhaus, Wege und Entscheidungen, Krebstherapie zwischen Hochleistungsmedizin und Menschlichkeit
2001/2002	Vorlesung Klinische Elektrokardiographie
2002 bis 2003	Kurs „Medical English“
2002	35. Onkologisches Seminar in der Schlossbergklinik Oberstaufen
2002	Diskussionsforum „Krebstherapie auf den Punkt: Protonen als Zukunft?“
2003	Symposium „Innovations in Radiation Oncology – Precision and Effectiveness“ Munich

2003	9. Interdisziplinäres Symposium – Interdisziplinäre Onkologie Rothenburg
2003	2. Teddy-Krankenhaus Münchens
2003	Kurs „Sonographie für Fortgeschrittene“
2003	Naht- und Verbandskurs
2004	Vortrag „Adaptive Bestrahlungsdosen – ein Zugang zu einem neuen Therapiekonzept für Blasenkarzinome?“ beim 10. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Radioonkologie in Erfurt
2004	Fortbildungsveranstaltung „Neue Aspekte in der Therapie schwerer Infektionen unter besonderer Berücksichtigung der aktuellen Empfehlungen“

### **Sonstige Kenntnisse:**

EDV	Word, Excel, SPSS
Sprachen	sehr gute Sprachkenntnisse in Englisch

## 10 Danksagung

Während der Experimentier-, Auswertungs- und Schreibzeit meiner Doktorarbeit erfuhr ich von zahlreichen Personen Unterstützung. Stellvertretend für viele möchte ich mich bei einigen ganz besonders bedanken.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. med. Eckhart Dühmke. Er ermöglichte mir ein selbständiges Arbeiten und die Durchführung aller Experimente, die ich zur Überprüfung meiner Ideen benötigte. Seine radiobiologisch und klinisch orientierte Forschungseinrichtung waren ein fruchtbarer Boden für meine Forschungstätigkeit. Ganz herzlich bedanken möchte ich mich auch dafür, dass er es mir möglich machte, meine Ergebnisse am DEGRO-Kongress 2004 vorzutragen.

Ein sehr großes Dankeschön gilt auch Herrn PD Dr. med. Moshe Schaffer für die Betreuung meiner Arbeit. Mit seiner Hilfe, konstruktiver Kritik, seinen Kommentaren und Anregungen trug er ganz wesentlich zum Gelingen der Doktorarbeit, aber auch des Vortrags, bei. Seine Erfahrung und sein Wissen gab er stets bereitwillig in Form von Tipps, Rat und Tat an mich weiter und erleichterte mir dadurch sehr den Einstieg in die Forschungstätigkeit.

Herrn PD Dr. med. Martin Busch möchte ich ganz besonders danken für die Anregung zur Untersuchung der Wirkung radioadaptiver Dosen. Er war es auch, der mir das interessante Fachgebiet der Strahlentherapie näher brachte und somit den Grundstein für meinen jetzigen Berufswunsch legte. Auch dafür möchte ich ihm sehr danken.

Die Strahlenbiologin Frau Dr. rer. nat. Ulrike Kulka unterstützte mich mit ihrer liebenswürdigen, freundlichen Art unermüdlich nicht nur bei fachlichen Fragen sondern auch moralisch bei gelegentlichen Schwierigkeiten. Ohne die fruchtbaren Diskussionen und Korrekturvorschläge auch im privaten Rahmen wären meine Doktorarbeit und mein Vortrag nicht das, was sie jetzt sind. Herzlichen Dank dafür!

Der „Abteilung Physik“ gebührt auch ein großer Dank. Sie hatte nicht nur für meine technischen Fragen immer ein offenes Ohr und trug zu einem angenehmen Arbeitsklima bei.

Abschließend möchte ich mich bei meinen Eltern für ihre Geduld und Unterstützung in allen Höhen und Tiefen bedanken. Ohne ihren Beitrag wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.