

Aus der Universitätsklinik für Radioonkologie mit

Poliklinik Tübingen

Abteilung Radioonkologie

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. M. Bamberg

**Amifostin in subkutaner Anwendung bei Patienten
mit Kopf-Hals-Tumoren**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Daniel Werner Wilder

aus

Regensburg

2006

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. L. Plasswilm

2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. C. Belka

Meiner Familie gewidmet.

Verzeichnis der Abkürzungen

Ag/AgCl	Silber/Silberchlorid
AMG	Arzneimittelgesetz
AUC	Bioverfügbarkeit f
CL	Totale Clearance
C _{max}	Peakplasmakonzentration
CTC	Common Toxicity Criteria
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
E.D.	Einzeldosis
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
DTT	Dithiotreitol
Fa.	Firma
GCP	Good Clinical Practice
G.D.	Gesamtdosis
Gy	Gray
Hb	Hämoglobin
i.v.	Intravenöse Applikation
mg/m ²	Dosis in Milligramm pro Quadratmeter Körperoberfläche
min	Minuten
mM	Millimol
n	Anzahl der Proben/Patienten
NaCl	Natriumchlorid
MRT	Mittlere Verweildauer im System
PK	Pkarmakokinetische Analyse

PT	Primärtumor
Pt	Platin
$T_{1/2 \alpha}$	Verteilungs-Halbwertzeit
$T_{1/2 \beta \text{ term.}}$	Terminale Halbwertzeit
$T_{1/2 \text{ Vert.}}$	Halbwertzeit für die Verteilung
TCA	Trichloressigsäure
$T_{\text{max calc}}$	Berechnete maximale Halbwertzeit
RP-HPLC	Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography
RT	Radiotherapie
RTOG	Radiation Therapy Oncology Group
s.c.	Subkutane Applikation
Stdabw./S.D.	Standardabweichung
UE	Unerwünschte Ereignisse
UICC	Union internationale contre le cancer
V	Volt
VSS	Verteilungsvolumen im steady state

Inhaltsverzeichnis

Seite

1. Einleitung	1
1.1 Einleitung und Zielsetzung	1
1.2 Die Studiensubstanz Amifostin	3
1.2.1 Pharmakodynamische Eigenschaften	4
1.2.2 Pharmakokinetische Eigenschaften	6
1.2.3 Aktueller therapeutischer Einsatz von Amifostin	7
1.2.4 Klinische Begleiterscheinungen und Verträglichkeit von Amifostin	8
1.2.5 Überblick zur subkutanen Applikation von Amifostin	9
1.3 Theoretische Grundlagen der HNO-Tumoren	10
1.3.1 Definition	10
1.3.2 Inzidenz und Mortalität	11
1.3.3 Risikofaktoren	12
1.4 Einteilung und Prognose der HNO-Tumoren	12
1.4.1 TNM-Klassifikation	12
1.4.2 R-Klassifikation	14
1.4.3 Heilungsaussichten und 5-Jahres-Überlebensrate	14
1.5 Diagnostische Maßnahmen	15
1.6 Aktuelle Therapiemodalitäten	16
1.6.1 Überblick	16
1.6.2 Chirurgie	17
1.6.3 Radiotherapie	18
1.6.4 Chemotherapie	19
1.6.5 Radiochemotherapie	20
1.6.6 Experimentelle Therapieoptionen	21
1.6.6.1 Gentherapie	21
1.6.6.2 Photodynamische Therapie	22
1.6.6.3 Antikörpertherapie	22

2.	Material und Methoden	23
2.1	Studiendesign	23
2.2	Rechtliche und ethische Rahmenbedingungen	23
2.3	Studienablauf	24
2.3.1	Durchführung der Behandlung	24
2.3.1.1	Strahlentherapie	24
2.3.1.2	Supportiv-Therapie mit Amifostin	24
2.3.1.3	Begleitmedikation und Begleitmaßnahmen	25
2.3.1.4	Probengewinnung und Probenverarbeitung	25
2.3.1.5	Verwendete Materialien	27
2.4	Kriterien der Patientenselektion	29
2.4.1	Einschlusskriterien	29
2.4.2	Ausschlusskriterien	29
2.4.3	Abbruchkriterien	30
2.5	Klinische und pharmakokinetische Dokumentation	30
2.5.1	Klinische Dokumentation	30
2.5.1.1	Basisdokumentation bei Aufnahme	30
2.5.1.2	Verlaufsdokumentation und Follow-up	32
2.5.2	Pharmakokinetische Dokumentation	33
2.6	Beschreibung der Patienten	34
2.6.1	Patienten der Gruppe 1 (= subkutane Applikation von Amifostin)	34
2.6.1.1	Beschreibung Patient 1	34
2.6.1.2	Beschreibung Patient 2	35
2.6.1.3	Beschreibung Patient 3	35
2.6.1.4	Beschreibung Patient 4	36
2.6.1.5	Beschreibung Patient 5	37
2.6.2	Patienten der Gruppe 2 (= intravenöse Applikation von Amifostin)	37
2.6.2.1	Beschreibung Patient 6	37
2.6.2.2	Beschreibung Patient 7	38
2.6.2.3	Beschreibung Patient 8	39
2.6.2.4	Beschreibung Patient 9	39

2.7	Beteiligte Institutionen	40
3.	Ergebnisse	41
3.1	Pharmakokinetische Ergebnisse	41
3.1.1	Auswertung der Pharmakokinetik von Amifostin	44
3.1.2	Auswertung der Pharmakokinetik von WR-1065	46
3.1.3	Auswertung der Pharmakokinetik der Disulfide	49
3.1.4	Zusammenfassung der pharmakokinetischen Ergebnisse	50
3.2	Vergleichende grafische Darstellungen	50
3.3	Klinische Ergebnisse	54
3.3.1	Blutdruckverlauf im Rahmen der Therapie	54
3.3.2	Nebenwirkungen nach CTC bei der subkutanen Gruppe	56
3.3.3	Nebenwirkungen nach CTC bei der intravenösen Gruppe	58
4.	Diskussion	60
4.1	Patientengruppe	61
4.2	Applikationsdosis/Applikationszeitfenster	62
4.3	Abnahmezeitpunkte und Probenumfang	63
4.4	Probenverarbeitung und Analysemethode	64
4.5	Pharmakokinetische Daten	66
4.5.1	Pharmakokinetische Analyse von Amifostin	66
4.5.2	Pharmakokinetische Analyse von WR-1065	69
4.5.3	Pharmakokinetische Analyse der Disulfide	72
4.6	Klinisches Profil	73
4.6.1	Blutdruckverlauf	73
4.6.2	Nebenwirkungen der subkutanen/intravenösen Applikation	74
4.7	Schlussfolgerungen	78
5.	Zusammenfassung	80
6.	Literaturverzeichnis	83
7.	Danksagung	92

1. Einleitung

1.1 Einleitung und Zielsetzung

Jährlich werden weltweit mehr als eine halbe Million Tumoren im Kopf-Hals-Bereich neu diagnostiziert. Die Behandlung in dieser anatomisch komplexen und vital zentralen Lage bedeutet für die Betroffenen, neben einem evtl. entstellendem Äußeren nach operativer Behandlung, eine massive Einschränkung im sprachlichen, respiratorischen und oralen Bereich hinzunehmen. Diese Beeinträchtigungen bestehen oft lebenslang nach einer Therapie und sind, wenn durch eine Radiotherapie bedingt, auf eine bleibende Mucositis und Xerostomie zurückzuführen.

Neben den operativen Möglichkeiten umfassen die Therapieoptionen, die Chemo- und Radiotherapie bzw. unterschiedlichste Kombinationen aus beiden.

Gerade im Bereich der Strahlentherapie wurden enorme Fortschritte erzielt, z.B. durch hyperfraktionierte Bestrahlungen oder dreidimensionale CT-geführte Bestrahlungsplanungen. Diese Optionen stehen alle unter dem Aspekt, durch eine möglichst hohe Strahlendosis das maligne Gewebe zu verkleinern und unter Aussparung von Normalgewebe einen Schutz der gesunden Zellen zu erreichen. Dennoch liegen die höchst strahlensensiblen Mundspeicheldrüsen mitunter im Bestrahlungsvolumen der HNO-Patienten. Diese Patienten leiden folglich oft unter den gravierenden Folgen einer Xerostomie, welche unter Umständen, selbst eine Nahrungsaufnahme erheblich erschweren kann.

Um die genannten Nachteile zu verhindern und eine noch effektivere Protektion der gesunden Umgebung dieser sensiblen Organe zu erzielen, gewinnt die Verwendung radioprotektiver Substanzen zunehmend an Bedeutung.

Einer der wichtigsten Vertreter dieser Substanzklasse ist das Amifostin (WR-2721, Ethyol®), ein phosphorylierter Aminoalkohol (S-2[3-

aminopropylamino]-ethyl-thiophosphorsäure (Spencer et al., 1995; Culy et al. 2001).

Amifostin wurde in einem geheimen Forschungsprojekt der US-Armee in den späten 50er Jahren am Walter Reed (daher die Bezeichnung WR) Army Institute of Research zum Schutz der Soldaten in einem Nuklearkrieg entwickelt. Von den über 4400 untersuchten Substanzen wies es das höchste radio-/zytoprotektive und sicherste klinische Profil auf (Capizzi, 1999 a, Grdina et al, 2000; Davidson et al., 1980). In zahlreichen kontrollierten präklinischen Studien an Mäusen, Hunden und Affen konnte eine effektive chemo- und radioprotektive Wirkung nachgewiesen werden (Spencer et al., 1995). In weiteren klinischen Studien konnte darüber hinaus eine überzeugende supportive Wirksamkeit festgestellt werden. Diese erstreckt sich bisher vor allem auf eine Nephro-, Hämato-, Neuro- und Xerostomieprotektion. Vor allem in der Patientengruppe mit radiotherapeutisch behandelten Kopf-Hals-Tumoren konnte in einer umfassenden Studie eine signifikante Reduktion der chronischen Xerostomie und eine wesentlich bessere Lebensqualität der Betroffenen festgestellt werden (Wassermann et al., 2000).

Wesentliche Anforderungen an eine solche Substanz sind, eine einfache klinische Handhabung, optimale Patientensicherheit und breites protektives Spektrum. Die mögliche Gefahr einer gleichzeitigen Tumorprotektion besteht bisherigen Studien zufolge in keinem einzigem klinischen Fall (Koukourakis, 2003).

Seit 1995 ist die Substanz in Deutschland und den Vereinigten Staaten für eine Nephro-, Hämato-, Neuro- und Xerostomieprotektion in intravenöser Applikation zugelassen. Bei dem Präparat besteht seit 1999 auch eine Zulassung für die Behandlung und Prävention einer Xerostomie.

In den bisherigen klinischen Untersuchungen bezüglich einer intravenösen Applikation kommt es häufig zu einer Hypotension, einer Nausea, einer Emesis oder einer allergischen Reaktion. Dies erfordert einen intensiven Betreuung- und Überwachungsaufwand bei einer intravenösen Applikation.

Im Interesse einer einfacheren Behandlung bei gleichbleibend oder sogar erhöhter protektiver Wirkung und Verträglichkeit, wurde in der vorliegenden

Studie daher ein alternativer Applikationsweg beschrrieben. Dabei wurde einer subkutanen Behandlungsgruppe von Patienten mit HNO-Tumoren eine intravenösen Kontrollgruppe gegenübergestellt und Daten zur Pharmakokinetik erhoben.

Die protektive Wirkung von Amifostin wird hauptsächlich durch die Bioverfügbarkeit seines aktiven Metaboliten WR-1065 vermittelt (Spencer et al., 1995). Daher ist es von besonderer Bedeutung, inwiefern sich ein alternativer Applikationsweg auf dessen Bioverfügbarkeit auswirkt. Bisher existierten aber keine Daten zur klinischen Pharmakokinetik bei einer subkutanen Behandlungsrouten. Daher sollte, neben dem klinischen Outcome (vor allem der für HNO-Patienten limitierenden Xerostomie) und der Verträglichkeit, erstmals umfangreiche pharmakokinetische Daten zu einer subkutanen Applikation erhoben werden.

Dazu wurde das pharmakokinetische Profil einer subkutanen Gabe von Amifostin dem pharmakokinetischen Profil einer intravenösen Gabe gegenübergestellt. Dies wurde an insgesamt 9 Patienten mit lokoregionär fortgeschrittenem Kopf-Hals-Tumor, welche mit einer postoperativen Radiotherapie behandelt wurden, untersucht.

Des Weiteren wurde das Toxizitäts- und Nebenwirkungsprofil bei der Behandlung mit Amifostin sowie das Auftreten einer Xerostomie, einer Mukositis (\geq Grad 2 bzw. $<$ Grad 2) und weiterer strahlungsinduzierter klinischer Nebenwirkungen ermittelt. Die Einteilung für die Akut- bzw. Spättoxizität der Radiotherapie erfolgte gemäß den Kriterien nach CTC und RTOG (Seegenschmiedt et al., 1998 a, b).

1.2 Die Studiensubstanz Amifostin

Bei der Studiensubstanz Amifostin (WR-2721) handelt es sich um einen phosphorylierten Aminoalkohol mit der chemischen Bezeichnung S-2[3-aminopropylamino]-ethyl-thiophosphorsäure. Es wird als Zytoprotektivum eingesetzt, wobei diese Wirkung durch die Metaboliten vermittelt wird. Die

Substanz funktioniert somit im Sinne einer Prodrug (Culy et al., 2001; Spencer et al., 1995).

1.2.1 Pharmakodynamische Eigenschaften

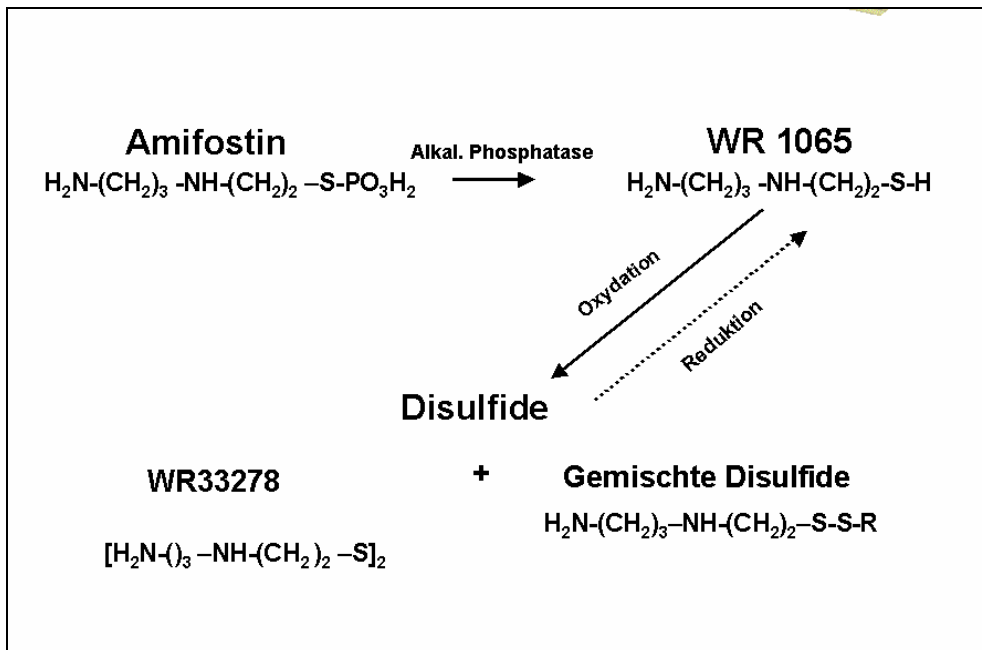


Abbildung 1: Metabolismus von Amifostin

In der Abbildung 1 ist die Umwandlung von Amifostin in den aktiven Metaboliten WR-1065 (freies Thiol) dargestellt. Dies geschieht durch die zellmembran-gebundenen oder freien kapillären alkalischen Phosphatasen (Calabro-Jones et al., 1985, 1988; Smoluk et al., 1988). Da die Aktivität der alkalischen Phosphatase in den gesunden Zellen wesentlich höher ist als in den malignen Zellen, die Gefäßversorgung regelmäßig besser funktioniert und der pH-Wert der gesunden Zellen im höheren Bereich liegt, wird die Aufnahme von WR-1065 in die gesunden, tumorfreien Zellen begünstigt (Yang et al., 1995).

Amifostin wird nicht von der sauren Phosphatase dephosphoryliert, so dass der oft in Tumorzellen vorherrschende saure pH-Wert eine Aufnahme behindert. Diese gewebsabhängige Biotransformation ist somit für die raschere

Anreicherung in gesunden Zellen verantwortlich. In den Tumorzellen existiert nur ein marginaler Transport durch eine passive Diffusion.

Untersuchungen an Tieren haben ergeben, dass die Konzentration von Amifostin und seiner Metaboliten in den gesunden Zellen das 100-fache der Konzentration in Tumorzellen erreichen kann. Dabei kommt es vor allem zu einer hohen Anreicherung in der Speicheldrüse, im Knochenmark, in der Niere, im Herz aber auch in der Haut, im Lebergewebe und in der Dünndarmschleimhaut (Capizzi 1999 b).

Sobald der aktive Metabolit (WR-1065) in die Zelle aufgenommen wurde, schützt es die Zelle vor Schäden die durch eine Chemo- und Radiotherapie verursacht werden. Der Schutz erfolgt durch das Abfangen freier Radikale, die Abgabe von Wasserstoffionen an die freien Radikale, die Sauerstoffdepletion und die direkte Bindung an zytotoxische Substanzen und deren Inaktivierung (DeNeve et al., 1988; Treskes et al., 1992 a, 1993). Durch diesen Vorgang werden im Vorfeld Schäden an der DNA verhindert und im Nachhinein eine Reparatur begünstigt (Capizzi 1999 b).

Jüngere Untersuchungen haben darüber hinaus noch weitere protektive Effekte von Amifostin auf zellulärer Ebene gezeigt. Diese bestehen aus einer Inhibition der Apoptose, einer unterschiedlichen Genexpression sowie einer Modifikation von Enzymaktivitäten (Culy et al., 2001).

In weiteren präklinischen Studien konnte Amifostin eine protektive Wirkung auf eine Vielzahl unterschiedlicher Gewebe und Organen zeigen. Dies wurde vor allem bei der Verwendung von alkylierenden und platinhaltigen Substanzen, Anthrazyklinen, Taxanen sowie bei der Bestrahlung festgestellt. Diese protektive Wirkung erstreckt sich überwiegend auf die durch alkylierende und platinhaltige Verbindungen hervorgerufene Hämato- und Nephrotoxizität.

In diesen Studien führte das Amifostin zu keiner Abschwächung der antitumoralen Wirksamkeit der Radio- oder Chemotherapie. In einigen Studien wurde sogar eine Verstärkung der antitumoralen Wirkung festgestellt. Neueren Untersuchungen zufolge könnte Amifostin, neben seiner protektiven Wirkung, auch einen trophischen Effekt auf die gesunden Vorläuferzellen des

menschlichen hämatopoetischen Systems haben. Außerdem zeigte sich, dass das Amifostin vor den durch eine Chemo- oder Radiotherapie induzierten sekundären Tumoren schützen könnte.

1.2.2 Pharmakokinetische Eigenschaften

Amifostin wird nach intravenöser Verabreichung verhältnismäßig schnell aus dem Plasma eliminiert (Verteilungs-Halbwertszeit $t_{1/2\alpha}$ von $\approx 0,8$ Minuten, Eliminations-Halbwertszeit von $t_{1/2\beta} \approx 8$ Minuten, Shaw et al., 1986; 1988). Diese schnelle Elimination lässt sich im Wesentlichen durch die rasche Umwandlung in den aktiven Metaboliten WR-1065 erklären. WR-1065 wird ebenfalls zügig aus dem Plasma entfernt ($t_{1/2\alpha}$ von ≈ 11 Minuten). Dies ist vermutlich auf die schnelle Aufnahme in die Zellen und der anschließenden Umwandlung in die Disulfid-Metaboliten zurückzuführen.

Nach erfolgter Infusion von Amifostin wurde in Tierexperimenten bereits innerhalb von 5 bis 15 Minuten Gewebe-Spitzenkonzentrationen von WR-1065 erreicht.

Dabei ist eine unterschiedliche Verteilung von Amifostin und von WR-1065 in den verschiedenen Körperzellen festzustellen. Die höchste Konzentration fand sich dabei in den Zellen der Niere, der Speicheldrüsen, der Dünndarmmucosa, der Leber und der Lunge. Eine beträchtlich geringere Konzentration konnte in den Gehirn- und Skelettmuskelzellen festgestellt werden (Spencer et al., 1995). Bei Messungen der Konzentrationen von Amifostin und seiner Metaboliten im Urin, wurden nur sehr geringe Konzentrationen festgestellt. Bei 10 Patienten, denen während einer 15-minütigen Infusion 740 mg/m^2 Amifostin verabreicht wurden, traten im Urin durchschnittlich 1,05%, 1,38% und 4,2% der Amifostingesamtdosis als Amifostin, WR-1065 und WR-33278 auf (siehe Abbildung 1). Ähnliche Werte von Amifostin und seiner Metaboliten ($< 3 \%$ der verabreichten Dosis) wurden im Urin von 6 Patienten gefunden die eine Bolusgabe von 150 mg/m^2 Amifostin erhalten hatten (Shaw et al., 1986, 1988).

In einigen präklinischen und klinischen Untersuchungen gibt es darüber hinaus Hinweise auf eine nicht-lineare Kinetik von Amifostin, vereinbar mit einem einer Sättigung unterliegenden Metabolismus (Culy et al.,2001).

1.2.3 Aktueller therapeutischer Einsatz von Amifostin

Es ist seit langem anerkannt, dass Amifostin zytoprotektive Wirkung bei der chemo- und radiotherapeutischen Behandlung von Patienten entfaltet.

Neuere Studien geben Hinweise auf ein noch breiteres Einsatzgebiet. Dieses umfasst die Stimulation hämatopoetischer Stammzellen, die Behandlung bei Patienten mit myelodysplastischen Syndrom sowie den Einsatz als Adjuvans bei autologen Knochenmarktransplantationen.

In den meisten klinischen Studien wurde Amifostin in Einmaldosen von 740 mg/m² oder 910 mg/m² (vor einer Chemotherapie) bzw. ≤ 500 mg/m² (vor einer Radiotherapie) als intravenöse Kurzinfusion verabreicht.

Klinisch wird Amifostin derzeit vor allem beim Ovarialkarzinom zur Reduktion des Infektionsrisikos durch eine Neutropenie (verursacht durch eine Kombinationstherapie mit Cyclophosphamid und Cisplatin) eingesetzt.

Ein weiteres Einsatzgebiet ist die Protektion vor der kumulativen Nephrotoxizität bei fortgeschrittenen soliden Tumoren (verursacht durch die cisplatinhaltigen Therapieschemata).

Außerdem wird Amifostin im Rahmen der fraktionierten Strahlentherapie bei Kopf-Hals-Tumoren zum Schutz vor der akuten und chronischen Xerostomie eingesetzt.

.

Einen kurzen Überblick über das potenzielle Zellschutzspektrum von Amifostin bei einer Chemo- und/oder Strahlentherapie gibt die folgende Tabelle 1 (Hartmann et al., 1998):

Tabelle 1: Potenziell zytoprotektives Spektrum von Amifostin nach Hartmann

Organ / Art der Toxizität	Akut	kumulativ
Knochenmark	gesichert	gesichert
Niere	wahrscheinlich	gesichert
Schleimhäute	gesichert	wahrscheinlich
Nerven	wahrscheinlich	wahrscheinlich
Herzmuskel	möglich	möglich

1.2.4 Klinische Begleiterscheinungen und Verträglichkeit von Amifostin

Bei Einhaltung der empfohlenen Therapieschemata besteht allgemein eine gute Verträglichkeit von Amifostin. Die zu beobachtenden unerwünschten Ereignisse sind in der Regel reversibel und therapeutisch beherrschbar.

Häufigste Erscheinungen sind Nausea und Emesis am Behandlungstag selbst und ein vorübergehender Abfall des systolischen Blutdrucks während der Infusion. Dieser Abfall verläuft in der Regel asymptomatisch, beträgt meist zwischen 20 und 50 mmHg und normalisiert sich in den meisten Fällen innerhalb von 5 bis 10 Minuten nach Infusionsende. Übelkeit und Erbrechen treten plötzlich, während oder unmittelbar nach Infusionsende auf und sind von leichter bis mittlerer Intensität. Beides lässt sich aber durch die Gabe von Antiemetika wie beispielsweise Dexamethason und Serotonin-5-HT₃-Rezeptorantagonisten mildern.

Weitere unerwünschte Folgewirkungen wie Niesen, Schläfrigkeit, Benommenheit, Gesichtsrötung, Schluckauf, seltene allergische Reaktionen und Schüttelfrost sind beschrieben (Glover et al., 1988; Capizzi et al., 1994; Spencer et al., 1995).

1.2.5 Überblick zur subkutanen Applikation von Amifostin

Die bisher beschriebenen pharmakokinetischen Daten zu Amifostin beruhen überwiegend auf der intravenösen Kurzinfusion. In der vorliegenden Studie wurde Amifostin subkutan verabreicht und einer intravenösen Kontrollgruppe gegenübergestellt (genaue Beschreibung siehe Kapitel 2).

In einer Crossover-Studie (Shaw et al., 1997) wurde bei 12 gesunden Probanden (18 bis 34 Jahre) sowohl eine konventionelle intravenöse Infusion von 200 mg/m² über 7,5 Minuten als auch eine absolute Menge von 500 mg subkutan verabreicht. Die subkutane Injektion wurde auf 2 gleiche Mengen aufgeteilt und in flüssiger Form unter die Bauchdecke gespritzt.

Bei der pharmakokinetischen Untersuchung ergab sich eine AUC des aktiven Metaboliten WR-1065 von 67% bei der subkutanen Route gegenüber der Intravenösen bei einem vergleichsweise flacheren Verlauf der Konzentrations-Zeit-Kurve.

Als Nebenwirkung wurde bei der intravenösen Applikation bei der Hälfte der Probanden über eine Übelkeit berichtet, bei der subkutanen Applikation hingegen nur in einem Fall. Darüber hinaus wurden keine weiteren Nebenwirkungen beobachtet und auf eine prophylaktische Gabe von Antiemetika verzichtet.

In einer weiteren Studie zu den Nebenwirkungen von Amifostin bezüglich der subkutanen Applikation (Mitromaras et al., 2001), wurde 15 Patienten (unter Chemotherapie) mit soliden Tumoren 500 mg Amifostin absolut zu zwei gleichen Teilen in beide Schultern verabreicht. Die Applikation erfolgte 30 Minuten vor der Chemotherapie in sitzender Position. 4 von 15 Patienten berichteten über leichte Schmerzen an der Injektionsstelle. Bei einem Patienten kam es zu einem generalisierten Erythem, welches aber auf die Gabe von Kortikosteroiden ansprach. Es wurden keine weiteren Nebenwirkungen, auch keine Hypotension oder Übelkeit, beobachtet.

Eine umfangreiche randomisierte Phase-II Studie untersuchte an 140 Patienten mit soliden Tumoren, die sich einer fraktionierten Strahlentherapie unterzogen, die subkutane Applikation von 500 mg Amifostin absolut (Koukourakis et al., 2000). Amifostin wurde den Patienten nach einer Verabreichung von oralen Anitemetika als Einmalgabe vor jeder Radiotherapie entweder in die Schulter oder in die Bauchhaut injiziert. Diese Behandlung wurde einer ausschließlich radiotherapeutisch behandelten Gruppe gegenübergestellt.

Von 85% der Patienten wurde die subkutane Applikation gut vertragen. In 5% der Fälle wurde die Amifostintherapie aufgrund der zunehmenden Schwäche und in 10% der Fälle aufgrund einer allergischen Reaktion unterbrochen. Eine Hypotension wurde in keinem der Fälle beobachtet, wohingegen über eine Übelkeit häufig berichtet wurde.

Im Ergebnis kam es zu einer signifikanten Reduktion von Mukositis im pharyngealen, oesophagealen und rektalen Bereich in der Amifostingruppe. Demgegenüber kam es in der Gruppe ohne Amifostinapplikation zu einer signifikanten Verzögerung der radiotherapeutischen Behandlung aufgrund einer Mukositis Grad 3 CTC.

1.3 Theoretische Grundlagen der HNO-Tumoren

1.3.1 Definition

Unter Tumoren im HNO-Bereich versteht man Neoplasien im Bereich des Gesichtsschädels, der Rhino- und Otobasis, der Mundhöhle, des Larynx, des Pharynx und des Ösophagus.

1.3.2 Inzidenz und Mortalität

Die Inzidenz und Verteilung der Kopf-Hals-Tumoren variiert geographisch in Abhängigkeit von kulturellen Unterschieden und der Verteilung von Risikofaktoren. Jährlich werden weltweit über 500000 neue Fälle diagnostiziert. Vor allem in Ländern wie Indien, Brasilien, Südostasien und anderen Entwicklungsländern liegt die Inzidenzrate bei 35% aller malignen Tumoren (Sankaranarayanan, R., et al. 1998). Auch in den Industrieländern hat die Inzidenz der Karzinome des oberen Aerodigestivtraktes in den letzten Jahrzehnten ständig zugenommen und beträgt hier etwa 5% aller malignen Tumoren (Spitz, 1994). Dabei rangieren die Kopf-Hals-Tumoren weltweit an sechster Stelle (Ganly, et al., 2000).

Bei den Kopf-Hals-Tumoren ist die häufigste Lokalisation bei den männlichen Patienten das Larynxmalignom, bei den weiblichen Patienten das Oropharynxmalignom (Schlesinger-Raab et al., 2003). 90% aller Neoplasien im Kopf-Hals-Bereich sind Plattenepithelkarzinome unterschiedlicher histologischer Differenzierung wobei sich initial rötliche oder leukoplakische Läsionen der Schleimhautoberfläche finden (Siegenthaler et al., 1987).

Aktuellen Daten aus dem Jahr 1998 in Deutschland zufolge, liegt die altersstandardisierte Inzidenz für Kopf-Hals-Tumore bei 24,5/100000 für die männliche Bevölkerung. Dies entspricht einem Anteil von 6,3% aller jährlichen Krebsneuerkrankungen. Damit befindet sich diese Tumorart in Deutschland an vierter Stelle mit dem Harnblasenkarzinom, hinter dem Prostata-, dem Lungen und dem kolorektalen Karzinom.

Die Mortalität lag bei den Männern bei einem Anteil von knapp 5% der Gesamtmortalität aller Tumoren.

Hingegen betrug die Inzidenzrate für Frauen im Jahr 1998 2,1%. Die Mortalität lag bei 1,3% der Gesamtmortalität aller Tumoren.

Im Jahr 1998 verstarben allein in Deutschland insgesamt 6806 Menschen an einem Malignom des Kopf-Hals-Bereiches, wobei das Verhältnis von Männern zu Frauen 3,8 zu 1 betrug (Schlesinger-Raab et al., 2003).

1.3.3 Risikofaktoren

Für die Entstehung von Kopf-Hals-Tumoren sind, neben der genetischen Veranlagung, Umwelteinflüsse von großer Bedeutung. Die wichtigsten Risikofaktoren sind dabei der Tabak- und Alkoholkonsum, Infektionen mit dem humanen Papillomaviren (HPV) oder dem Epstein-Barr Virus (EBV) (Ogura et al., 1999; Hausen, 1980).

90% der Patienten mit Kopf-Halstumoren sind Zigarettenraucher, 75% nehmen regelmäßig Alkohol zu sich, wobei Alkohol lediglich als kokarzinogen bewertet wird und von dem Nikotin die potentiell karzinogene Wirkung ausgeht (Delank, 1995; Maier et al., 1994).

Das Krebsrisiko steigt beim Alkoholkonsum im Sinne einer Dosis-Wirkungs-Beziehung an, wobei der Häufigkeit des Alkoholzufuhrs scheinbar eine größere Rolle zukommt als der Art des Alkohols (Chen et al., 2000).

Die meisten Patienten sind also starke Raucher, alkoholkrank und haben häufig darüber hinaus eine außerordentlich schlechte Mundhygiene (Metelmann, 1998). Dabei führen eine schlechte Mundhygiene und ein Alkoholabusus bei insuffizient saniertem Gebiss regelmäßig zu einer Prämorbidität der Mundschleimhaut im Sinne einer chronischen Entzündung (Reichart, 1991). Besonders gefährdet für eine Erkrankung sind Männer über 40 Jahren. Inzwischen lässt sich aber auch eine zunehmende Inzidenz für Frauen feststellen.

1.4 Einteilung und Prognose der HNO-Tumoren

1.4.1 TNM-Klassifikation

Das TNM-System zur Klassifikation maligner Tumoren wurde von Pierre Denoix in den Jahren 1943 bis 1952 in Frankreich entwickelt (Hoffmann et al. 2002; Deviri et al., 1982). Es beruht auf der Klassifikation des Primärtumors (T), der regionären Lymphknoten (N) und der Fernmetastasen (M) unter Berücksichtigung der folgenden Kriterien:

- (T): Primärtumorausdehnung bzw. Infiltration benachbarter Strukturen
- (N): Lage, Anzahl und Größe der befallenen Lymphknoten der regionären Lymphabflussgebiete
- (M): Präsenz von Fernmetastasen

Es wird unterschieden zwischen präoperativer Einteilung (klinisch; cTNM) und postoperativer Einteilung (histopathologisch; pTNM).

Eine generelle Einteilung der Tumoren erfolgt anhand des TNM-Atlas der Union internationale contre le cancer (UICC, 1985). Diese Einteilung ist für jede Tumoentität im HNO-Bereich sehr spezifisch und kann daher hier nur im Überblick dargestellt werden.

Bei der Tumorgöße ist T1 mit einem Durchmesser von bis zu 2 cm definiert, T2 bedeutet 2 bis 4 cm maximale Ausdehnung, T3 entspricht einer Tumorgöße von über 4 cm und T4 infiltriert bereits Knochen, Muskeln bzw. andere Nachbarstrukturen.

Der Lymphknotenstatus N0 bedeutet, dass kein Lymphknotenbefall besteht. Der Status N1 ist definiert als ipsilateraler solitär infiltrierter Lymphknoten unter 3 cm Durchmesser. Der Status N2 wird unterteilt in N2a, N2b und N2c. Dabei entspricht der Status N2a einer Lymphknotenmetastase ipsilateral mit einem Durchmesser von über 3 bis 6 cm. Der Status N2b bedeutet multiple infiltrierte ipsilaterale Lymphknoten mit einem Durchmesser kleiner als 6 cm und N2c wird gleichgesetzt mit mehreren bilateralen bzw. kontralateralen Metastasen.

Der Fernmetastasenstatus M0 bedeutet den Ausschluß von Fernmetastasen. Der Status Mx bedeutet, dass keine Fernmetastasen diagnostiziert wurden und der Status M1 bedeutet ein Vorhandensein von Fernmetastasen.

Die klinischen Stadien nach UICC gehen direkt aus der TNM-Klassifikation hervor. Eine Einteilung erfolgt in die Stadien 0 bis IV nach UICC:

- Stadium 0 ist als Carcinoma in situ definiert
- Stadium I als T1N0M0
- Stadium II als T2N0M0
- Stadium III als T1-3N1M0
- Stadium IV sind alle T4, alle M1 sowie alle N2 bzw. N3-Tumoren

1.4.2 R-Klassifikation

Die klinische R-Klassifikation berücksichtigt die lokoregionäre Situation, den Primärtumor (PT) und regionäre Lymphabflussgebiete sowie auch evtl. Fernmetastasen. Sie ist vor allem zum Verständnis der chirurgischen Resektion von Bedeutung.

- R0 liegt vor, wenn der PT (mit oder ohne regionäre Lymphabflussgebiete und etwaige Fernmetastasen) nach makroskopischer Beurteilung durch den Operateur komplett im Gesunden entfernt wurde und die Resektionsflächen des PT mikroskopisch tumorfrei sind.
- R1 liegt vor, wenn im Unterschied zu R0 mikroskopische Tumorgewebe an den Resektionsflächen erkennbar sind.
- R2a liegt vor, wenn der PT makroskopisch nicht / oder wahrscheinlich nicht entfernt wurde, dies jedoch mikroskopisch nicht verifiziert ist.
- R2b liegt vor, wenn im Unterschied zu R2a eine mikroskopische Verifizierung des makroskopisch sichtbaren Residualtumors vorliegt.

1.4.3 Heilungsaussichten und 5-Jahres-Überlebensrate

Trotz der Fortschritte in den chirurgischen Resektionsverfahren, der Entwicklung neuer chemotherapeutischer Wirkstoffe und der Einführung verbesserter radiotherapeutischer Protokolle ist die Überlebensrate bei HNO-Tumoren in den letzten 30 Jahren nicht signifikant gestiegen.

Die Heilungsaussichten nach Langzeituntersuchungen von in den 70er Jahren diagnostizierten Fälle lagen für Männer bei 35% und für Frauen bei 50%. Eine Stabilisierung der Überlebensraten ließ sich erst nach ca. 10 Jahren nach Diagnosestellung verzeichnen (Stenbeck, 1995).

Die 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit für Patienten mit HNO-Tumoren wird entsprechend den klinischen Stadien angegeben.

Im Stadium I wird eine rezidivfreie 5-Jahres-Überlebensrate von fast 90 % der Patienten erreicht.

Im Stadium II erreichen die Patienten eine entsprechende Rate von 78%.

Für Patienten im Stadium III wird eine 5-Jahres-Überlebensrate von 60% angegeben.

Im Stadium IV wird noch eine rezidivfreie 5-Jahres-Überlebensrate von 31% der Patienten erreicht (Waldfahrer et al., 1999).

1.5 Diagnostische Maßnahmen

Die diagnostischen Maßnahmen erfolgen um eine genaue Stadieneinteilung der Erkrankung zu definieren. Entsprechend diesen Stadien wird eine gezielte Therapieform eingeleitet. Da die einzelnen Möglichkeiten der Diagnostik für die Karzinome des oberen Aerodigestivtraktes zum Teil sehr spezifisch sind, wird im Folgenden nur ein allgemeiner Überblick dargestellt.

Zu den diagnostischen Maßnahmen zählen folgende Untersuchungen:

- Lokaler Untersuchungsstatus
- Palpation des Primärtumors und des Halses
- Sonographie des Halses
- Spiegeluntersuchung oder Panendoskopie (zum Ausschluss eines synchronen Zweittumors)
- Biopsie (evtl. Exzisionsbiopsie) mit histologischer Begutachtung

- Röntgen Thorax
- Interdisziplinäre Untersuchung (Tumorstaging)
- Teilweise Exfoliativzytologie
- Computertomographie/Magnetresonanztomographie
- In Einzelfällen zusätzlich:
Positronenemissionstomographie/Ösophagusendosonographie/Mikro-
laryngoskopie/Lupenlaryngoskopie/Skelettszintigraphie/EBV-Titer

1.6 Aktuelle Therapiemodalitäten

1.6.1 Überblick

In der klinischen Praxis wird die Behandlung stadiengerecht durchgeführt und die klinische Einteilung erfolgt wie in Kapitel 1.3.1 beschrieben.

Die Stadien I/II nach UICC werden auch als frühe Stadien bezeichnet und machen ca. 30% aller Fälle aus (Vokes, 1992). Es handelt sich um kleine früherkannte Karzinome ohne Beteiligung der regionären Lymphknoten.

Es besteht sowohl die chirurgische als auch die radiotherapeutische Behandlungsoption. Unabhängig von der Wahl der Therapie werden je nach Lage der Lokalisation des Primärtumors eine 5-Jahres-Überlebensrate von 60 bis > 90% erzielt (Stupp, 1995; Fietkau, 1992).

Als lokal fortgeschritten werden die Stadien III und IV ohne das Vorhandensein von Fernmetastasen bezeichnet. In diesem Stadium befinden sich mit ca. 60% die meisten Patienten mit der Primärdiagnose eines großen Primärtumors oder Halslymphknotenmetastasierung (Vokes, 1993). In diesen Stadien können durch alleinige Strahlentherapie oder Chirurgie nur Heilungsraten von 20 bis 30% erzielt werden (Stupp, 1995a).

Im Stadium IV mit dem Vorhandensein von Fernmetastasen befinden sich bei Erstdiagnose zwischen 10 bis 25 % der Patienten (Clark, 1988; Merino, 1977; Stupp, 1994). In diesen Fällen, sowie beim Auftreten von Rezidiven, hat die

Therapie lediglich einen palliativen Charakter. Das Vorhandensein von Fernmetastasen wird derzeit häufig mit einer Chemotherapie behandelt.

Sowohl bei Lokalrezidiven als auch bei Fernmetastasen zeigen nur ca. 35% der Patienten ein Ansprechen auf Therapie, welches mit 6 bis 9 Monaten nur von kurzer Dauer ist (Forastiere, 1994).

Dieses schlechte Ansprechen auf die bisherigen Therapieoptionen konzentriert das Interesse vermehrt auf die Weiter- bzw. Neuentwicklung von alternativen Therapieformen. Darunter sind vor allem die Gentherapie, die Antikörperbasierte Therapie, die photodynamische Therapie und die Entwicklung von supportiven Maßnahmen zu nennen. Derartige Behandlungen können unter potentieller Aussparung des gesunden Gewebes den Tumor spezifisch bekämpfen. Bisher erfolgt aber kein routinemäßiger Einsatz dieser Therapien in der klinischen Praxis.

Im Folgendem werden die einzelnen aktuellen Therapieformen im Bereich der Chirurgie, der Radio- und Chemotherapie sowie Einblicke in neue Behandlungsverfahren dargestellt.

1.6.2 Chirurgie

Die Chirurgie der malignen Kopf-Hals-Tumoren hat einen bedeutenden Stellenwert.

Das Hauptziel der chirurgische Behandlungsmaßnahmen, bei der kurativ intendierten Tumorchirurgie, besteht im Versuch einer radikalen Entfernung des Primärtumors unter Einhaltung eines Sicherheitsabstandes sowie einer intraoperativen Schnellschnittbeurteilung der Resektionsgrenzen (R0-Resektion). Vor allem bei dem häufig vorkommenden Plattenepithelkarzinom ist sie der bedeutendste prognostische Faktor (Wennerberg, 1996).

Es stehen dabei unterschiedliche Techniken (Skalpell, Laser, elektrisches Messer), sowie verschiedene Zugangswege zur Tumorregion zur Verfügung. Häufig wird die Operation des Primärtumors von einer Ausräumung

verschiedener Lymphknotengruppen begleitet. Die Lymphknotenausräumung kann als selektive Lymphknotenexstirpation, als supra- (omo-) hyoidale Lymphknotenausräumung oder als Neck dissection (funktionell modifiziert oder klassisch radikal) durchgeführt werden. Dabei hängt die Entscheidung der Art der Lymphknotenausräumung insbesondere von der Lokalisation, der Größe und vom Infiltrationsgrad des Primärtumors ab.

Die operative Behandlung von Rezidiven gestaltet sich, v.a. bei bereits bestrahlten Patienten, meist schwieriger. Für radikalchirurgische Eingriffe muss, angesichts der ungünstigen Prognose von Rezidivtumoren, zwischen den funktionellen und den plastischen Kriterien abgewogen werden.

Bei Vorliegen von inoperablen Tumoren und ausgedehnten Rezidiven gestaltet sich das chirurgische Vorgehen lediglich im Sinne eines Palliativeingriffes zur Verbesserung der Lebensqualität des Patienten.

1.6.3 Radiotherapie

Die adjuvante Radiotherapie und die primäre Radiotherapie stellen wichtige Säulen in der Behandlung der malignen Kopf-Hals-Tumoren dar.

Liegt im malignen Gewebe eine Strahlensensibilität vor, kann prinzipiell eine gezielte Tumorzellvernichtung unter größtmöglicher Schonung des gesunden Gewebes erzielt werden.

In vielen Fällen gelingt es eine Devitalisierung der Tumorzellen mit Verkleinerung des Tumors und Verhinderung der Ausbreitung von bereits in die Lymphbahnen abgesiedelten Tumorzellen zu erreichen.

In manchen Fällen erfolgt dennoch ein weiteres Tumorwachstum oder es kommt zu einer Entwicklung von Lymphknotenmetastasen im Halsbereich.

Eine lokale Tumorremission von ungefähr 70% kann bei Bestrahlungsdosen größer als 60 Gy erzielt werden.

Trotz umfangreicher Maßnahmen zur Prävention von Strahlenreaktionen beinhaltet eine Strahlentherapie die Gefahr von akuten und chronischen Toxizitäten. Dazu gehören insbesondere die Mukositis (Bensadoun et al.,

2001), die Xerostomie und das Auftreten von Schluckbeschwerden. Neben der Induktion eines Zweittumors ist die schwerwiegendste Spätkomplikation der Radiotherapie, die Osteoradionekrose. Jede der genannten Therapiefolgen kann zu einer massiven Beeinträchtigung der Lebensqualität der betroffenen Patienten führen.

1.6.4 Chemotherapie

Eine Heilung durch eine ausschließliche Verwendung von Chemotherapeutika ist derzeit nicht möglich. Bisher erfolgt der alleinige Einsatz der Chemotherapie lediglich in palliativen Situationen. Ebenso kommt sie zur Verwendung bei Patienten mit Metastasen oder lokoregionären Rezidiven, bei denen keine weiteren radiotherapeutischen oder chirurgischen Interventionen mehr möglich sind. Sie dient hier der Lebenszeitverlängerung und der Verbesserung der Lebensqualität.

Ein neoadjuvanter Einsatz der Chemotherapie dient einerseits dem Ziel der Tumorreduktion (Verbesserung der Vorraussetzung für eine radikale Operation) sowie andererseits einer eventuell bereits abgelaufenen Mikrometastasierung entgegenzuwirken.

Eine kurative Therapieintention hat die Chemotherapie nur in Kombination mit der Strahlentherapie im Rahmen multimodaler Therapiekonzepte bei lokoregionär fortgeschrittenen Tumoren (Stadium III/IV, M0), welche allein chirurgisch und/oder strahlentherapeutisch nicht bzw. nur unter Inkaufnahme verstümmelnder Maßnahmen heilbar wäre (Laak et al., 1998).

Bei malignen Tumoren im Kopf-Hals-Bereich haben sich folgende Substanzen als chemotherapeutisch wirksam erwiesen: Cisplatin, Carboplatin, 5-Fluorouracil, Methotrexat, Cyclophosphamid, Ifosfamid, Vincaalcaloide, Docetaxel und Paclitaxel.

Grundsätzlich ist eine systemische, eine intratumorale oder eine intraarterielle Chemotherapeutikagabe möglich.

Die systemische Chemotherapie kann mit einer Einzelsubstanz (z.B. Cisplatin oder Methotrexat) oder als kombinierte Chemotherapie erfolgen. Die Kombinations-Chemotherapie (z.B. Cisplatin/Carboplatin und 5-Fluorouracil) steigert dabei die Gesamtansprechrates auf 30-40% (Vokes et al., 1996) gegenüber einer Ansprechrates der Einzelsubstanzen von 10-30% (Jacobs et al., 1992).

Die Chemotherapeutika der neueren Generation (Docetaxel und Paclitaxel) haben eine hohe Aktivität bei Kopf-Hals-Malignomen und zeigen Ansprechrates von bis zu 40% (Forastiere et al., 1998).

Ein Überlebenszeitvorteil konnte leider bisher weder durch die Einführung neuer Chemotherapeutika noch durch unterschiedliche Kombinationsformen erzielt werden (Forastiere, 1994; Vermoken, 1998). Dagegen ist ein signifikanter Einfluss der Chemotherapeutika auf die Fernmetastasierungsrate feststellbar (Laramore, 1992).

1.6.5 Radiochemotherapie

Durch die unbefriedigenden Ergebnisse der alleinigen Radiotherapie bei inoperablen lokoregionären HNO-Tumoren wurde die Radiochemotherapie eingeführt.

Im Rahmen der Radiochemotherapie ist grundsätzlich eine sequenzielle oder simultane Arbeitsweise möglich. Dabei erfolgt der Einsatz von Radio- und Chemotherapie abwechselnd oder parallel. Im Vergleich zur alleinigen, konventionell fraktionierten Radiotherapie, als auch zur sequenziellen Radiochemotherapie, werden bei der simultanen Radiochemotherapie signifikant höhere Raten an lokoregionärer Tumorfreiheit erzielt. Einen Überlebensvorteil zeigt derzeit aber einzig die simultane Radiochemotherapie (Myers et al., 1998).

Die hauptsächlich eingesetzten Substanzen einer hochdosierten simultanen Radiochemotherapie sind das 5-Fluorouracil, Carbo-/Cisplatin, Mitomycine und die Taxane.

Vor allem bei radioresistenten Tumorzellsubtypen wie z.B. Zellen mit niedrigem pH-Wert, hypoxischen Zellen oder Zellen in der radioresistenten S-Phase kann ein zusätzlicher Einsatz der Chemotherapie wirkungsvoller sein. Die kombinierte Therapie kann die Zellen während ihrer radiosensitiven Phase synchronisieren oder aufhalten, ein erneutes Zellwachstum zwischen den einzelnen Fraktionen und die Reparatur von strahleninduzierten DNA-Schäden verhindern (Lamont et al., 2001).

Durch den simultanen Einsatz beider Therapieoptionen kann bei Tumoren in fortgeschrittenen Stadien auch auf eine Operation ganz verzichtet werden bzw. ein geringeres Operationsausmaß und somit ein Organerhalt erreicht werden (Laak et al. 1998).

1.6.6 Experimentelle Therapieoptionen

1.6.6.1 Gentherapie

Die Gentherapie könnte potentiell, durch die direkte Tumoringektion für die Behandlung von lokoregionären Rezidiven, durch eine systemische Therapie für die Behandlung von Fernmetastasen und durch eine Injektion in die Resektionsgrenzen, von Vorteil sein.

Nachteilhaft ist allerdings die Notwendigkeit einer direkten Tumoringektion und die durch das Immunsystem vermittelte Elimination der notwendigen viralen Vektoren zur Gentransduktion (Ganly et al, 2000 b).

1.6.6.2 Photodynamische Therapie

In der photodynamische Therapie wird durch die selektive Aufnahme eines lichtsensitiven Medikamentes in die Tumorzellen und anschließender Laserlichtapplikation eine photochemische Reaktion mit dem Ziel der Tumorzelldestruktion ausgelöst (Davis, 1995). Der am häufigsten verwendete Photosensibilisierer ist das Hämatoporphyrinderivat Photoferin II (Guus et al., 1997).

1.6.6.3 Antikörpertherapie

Für die antikörperbasierte Therapie werden in der Literatur über 30 verschiedene monoklonale Antikörper, die gegen Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereiches gerichtet sind, erwähnt (Guus et al., 1997). Dabei werden, durch eine Kopplung antitumoröser Substanzen an monoklonale Antikörper, äußerst tumorzellspezifische Präparate geschaffen (Wessels et al., 1989).

Diese neuen Therapieformen befinden sich zwar noch in der Entwicklung, zum Teil aber mit ermutigenden Ergebnissen. Bisher konnte sich allerdings noch keine dieser Therapieoptionen im onkologischen Alltag etablieren.

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine offene Phase I/II-Studie. Es wurden 9 Patienten ausgewertet deren Behandlung zwischen März 2000 und Juli 2001 stattfand. Der Aufbau erfolgte in erster Linie nach explorativen und deskriptiven Gesichtspunkten.

2.2 Rechtliche und ethische Rahmenbedingungen

Die klinische Prüfung erfolgte nach den Deklarationen von Helsinki (revidierte Fassung von 1996 Somerset West/Südafrika). Das erforderliche Ethikvotum wurde vor Beginn der Studie von der zuständigen Kommission eingeholt.

Vor dem Eintritt in die Studie wurden alle Patienten über den Hintergrund und den aktuellen wissenschaftlichen Stand der in der Studie verwendeten Substanz aufgeklärt. Außerdem wurden Ihnen Ansprechpersonen für auftretende Fragen bezüglich der Prüfsubstanz, substanzbedingter Nebenwirkungen oder des generellen Studienablaufs genannt. Vor Eintritt in die Studie musste eine schriftliche Einverständniserklärung vom aufklärenden Arzt und dem Patienten unterzeichnet und abgegeben werden. Für alle Patienten wurde eine Probandenversicherung abgeschlossen.

Der Studienleiter verfügte über die im Arzneimittelgesetz (AMG) geforderte mindestens zweijährige Erfahrung in der klinischen Prüfung von Arzneimitteln. Alle in dieser Studie verwendeten Medikamente waren gesetzlich zugelassen. Die Studie wurde auf freiwilliger Basis den zuständigen regionalen Aufsichtsbehörden sowie an das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte gemeldet.

Es bestand die Möglichkeit eines Monitoring nach den Forderungen des „Good Clinical Practice“ (GCP), sowie die in diesem Rahmen geforderten Qualitätssicherungsmaßnahmen/Audits.

Ein vorzeitiger Abbruch der Studie war nur aus medizinischen, ethischen oder arzneimittelrechtlichen Gründen bzw. bei unzureichender Patientenrekrutierung möglich.

2.3 Studienablauf

2.3.1 Durchführung der Behandlung

2.3.1.1 Strahlentherapie

Alle Patienten wurden postoperativ mit einer fraktionierten Strahlentherapie im Bereich der Primärtumorregion und der beidseitigen zervikalen Lymphabflussgebieten behandelt.

Dabei wurde eine Einzeldosis von 2,0 Gy verwendet. Die Patienten wurden an 5 Tagen der Woche bestrahlt und die Behandlung bis zum Erreichen der entsprechenden Gesamtdosis zwischen 50 bis 64 Gy fortgeführt. Daraus ergab sich eine Gesamtbehandlungsdauer zwischen 5 ½ bis 6 ½ Wochen, vorausgesetzt, es musste aufgrund von Nebenwirkungen der Radiotherapie keine Bestrahlungspause eingelegt werden. Die Behandlung erfolgte regulär dem Therapieregime für Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren.

2.3.1.2 Supportiv-Therapie mit Amifostin

Amifostin (Ethyol®) wird in Deutschland von der Fa. Essex Pharma GmbH in München vertrieben. Es handelt sich um eine Durchstechflasche mit 500 mg Pulver aus 500 mg Amifostin.

Das Amifostin wurde mit 2,5 ml einer isotonen Kochsalzlösung gelöst und auf jeweils 2 Spritzen mit 1,25 ml verteilt. Die Applikation erfolgte täglich. Zwischen dem Applikationszeitpunkt und der Radiatio durften höchstens 30 - 45 Minuten liegen. Die Injektion erfolgte subkutan an zwei Stellen unter der Bauchhaut. Diese wurden täglich gewechselt.

Bei den Patienten mit der intravenösen Applikation wurden 500 mg Amifostin absolut auf 100 ml isotoner Kochsalzlösung gelöst und als Kurzinfusion über 5 bis 10 Minuten verabreicht.

Ab dem Zeitpunkt der Applikation wurde der Blutdruck überwacht und auf das Auftreten von Symptomen einer Hypokalzämie geachtet.

Außerdem wurden die Blut- und Urinabnahmen sowie die pharmakokinetischen Untersuchungen entsprechend dem Protokoll im Kapitel 2.5 ausgeführt.

2.3.1.3 Begleitmedikation und Begleitmaßnahmen

Um den Blutdruckabfällen unter einer intravenösen Infusion von Amifostin zu begegnen, wurde vor Beginn der Therapie auf einen ausreichenden Hydratationszustand der Probanden geachtet.

Um das ausgeprägte emetogene Potential von Amifostin zu beherrschen, war die Verabreichung von 5-HT₃ Antagonisten, Metoclopramid-HCL bzw. Glucokortikoiden zulässig.

Weitere im Zusammenhang mit der Studie verabreichte Medikamente und Maßnahmen wurden dokumentiert. Die Gabe von Zytostatika, Zytokinen, Wachstumsfaktoren, Hormonen, immunmodulatorischen sowie sonstigen experimentellen Substanzen war während des Behandlungszeitraumes nicht zulässig.

Alle Patienten erhielten die zentrumsübliche Standardbehandlung zur Haut- und Schleimhautpflege.

2.3.1.4 Probengewinnung und Probenverarbeitung

Um geeignete Proben für den Nachweis von Amifostin, von WR-1065 und von den Disulfiden zu erhalten (siehe Abbildung 1), wurde den beiden Patientengruppen (s.c., i.v.) in einem festgelegten Schema (siehe Kapitel 2.5.2) venöses Blut aus einer peripheren Vene entnommen (2,7 ml EDTA Behälter). Außerdem wurden Aliquots von Urinfraktionen in einem festgelegten Schema (siehe Kapitel 2.5.2) in 12 ml Monovetten gefüllt.

Die Entnahmen erfolgten an den Tagen 1, 4 und 5 der ersten Behandlungswoche sowie an weiteren Tagen während der gesamten Behandlungsdauer.

Für die pharmakokinetischen Untersuchungen wurden insgesamt 12 Blutproben zwischen 0 min (Anfang der Infusion bzw der s.c. Applikation) und bis zu 360 min später entnommen. Anschließend wurden diese Proben bei 4°C für die Dauer von 10 min bei 2000 x g zentrifugiert. Zu einer Fraktion von 800 µl des gewonnenen zellfreien Plasmaüberstandes wurden 20 µl TCA (Trichloressigsäure 80%) hinzugefügt und bei -20°C gelagert. Ein zweites Aliquot von ebenfalls 800 µl zellfreiem Plasma wurde ohne Zugabe von TCA bis zur Bestimmung der (gemischten) Disulfide, bei -20°C gelagert.

Das aufgetaute (2-3 min Handwärme), saure und deproteinisierte Plasma wurde bei 4°C für 10 min mit 20000 x g zentrifugiert. Anschließend wurde, für die sofortige quantitative Messung von WR-1065, die Menge von 250 µl durch eine Membran (0,45 µm) direkt in das Probeninjektionsgefäß gefiltert (Filterplatte GHP AcroPrep, Waters Alliance Filtration System, Waters GmbH Eschborn).

Die Analyse von Amifostin erfolgte nach Umwandlung zu WR-1065 aus der deproteinisierten Plasmaprobe. Dazu wurde die Probe bei 42°C (mindestens 8 h) über Nacht inkubiert und anschließend nach oben beschriebener Prozedur weiterverarbeitet.

Die aufgetauten (2-3 h, Raumtemperatur) Disulfide wurden mittels Zugabe von 20 µl DTT (50mmol Dithiothreitol der Fa. Serva) zu WR-1065 reduziert (15 min, Raumtemperatur), danach mittels TCA deproteinisiert und wie oben beschrieben weiterverarbeitet. Die anschließende Analyse erfolgte mittels eines Volumens von 200 µl.

Für die quantitativen Messungen von Amifostin, von WR-1065 und von den Disulfiden wurde die im Folgenden beschriebene RP-HPLC Methode verwendet. (System und Messungen Dr. R. A. Hilger, Abteilung Innere Klinik und Tumorforschung, Universitätsklinikum Essen):

- RP-HPLC System bestehend aus Probengeber und Pumpsystem: Waters Alliance 2690 Separation Module
- 2 phasiges Fließmittelsystem mit einer Flussgeschwindigkeit von 1ml/min

- 82% wässrige Phase (20mM Di-Kaliumhydrogenphosphat der Fa. Merck, 5mM Oktylsulfat der Fa. Fluka, 1mM Tetrabutylammoniumhydrogensulfat der Fa. Sigma)
- 18% organische Phase (Acetonitril der Fa. Baker HPLC Grade)
- pH der wässrigen Phase auf 3,0 eingestellt mittels H₃PO₄
- Säule: Vorsäule 20 x 3,9 mm, Säule Symmetrie 250 x 4,6 mm gefüllt mit C18 Ketten symmetrischer Porengröße (5µm) ; Fa. Waters GmbH Eschborn
- Detektor: Amor elektrochemischer Detektor bestehend aus einer Pt-Arbeits Elektrode und einer Ag/AgCl Gegenelektrode bei einer Spannung von +1,00 V (Elektrochemischer Detektor AMOR Fa. Antec, Leiden Niederlande)
- Software: Waters Millennium Chromatography Manager
- Pharmakokinetische Analyse (PK) erfolgte mit Kinetica 2000 (InnaPhase Sarl, Champs-sur Marne, Frankreich)
- Das Minimum der Detektion lag bei 10ng/ml WR-1065

2.3.1.5 Verwendete Materialien

Die folgende Aufzählung stellt das Gesamtverzeichnis der verwendeten Materialien, Geräte und sowie Anzahl der gewonnenen Proben pro Patient dar:

- 2,7 ml EDTA Behälter
- 12 ml Urinmonovette
- TCA (Trichloressigsäure 80% der Fa. Merck)
- Eppendorfcaps
- Amifostin als 500 mg Trockensubstanz (S-2[3-aminopropylamino]-ethylthiophosphorsäure der Fa. Essex)
- RP-HPLC System bestehend aus Autosampler und Pumpsystem (detaillierte Beschreibung siehe oben)
- 0,9 % NaCl
- Dopamin D2-Rezeptorantagonist: Vergentan® (Antiemetikum)
- 5-HT₃-Rezeptorantagonist: Granisetron Kevatril® (Antiemetikum)
- Glucocorticoide: (Fortecortin®)

- Blutdruckmanschette und Stethoskop
- 9 Patienten insgesamt

Folgende Proben wurden in der subkutanen Behandlungsgruppe gewonnen:

- ➔ S. H. (s.c.) 95 Serumproben, 1 Urinprobe, 79 Blutdruckmessungen
- ➔ W. E. (s.c.) 83 Serumproben, 5 Urinproben, 60 Blutdruckmessungen
- ➔ W. B. (s.c.) 150 Serumproben, 54 Urinproben, 148 Blutdruckmessungen
- ➔ N. H. (s.c.) 107 Serumproben, 1 Urinprobe, 46 Blutdruckmessungen
- ➔ M. J. (s.c.) 13 Serumproben, 0 Urinproben, 13 Blutdruckmessungen

Folgende Proben wurden in der intravenösen Behandlungsgruppe gewonnen:

- ➔ S. E. (i.v.) 111 Serumproben, 5 Urinproben, 83 Blutdruckmessungen
- ➔ T. V. (i.v.) 73 Serumproben, 6 Urinproben, 56 Blutdruckmessungen
- ➔ B. W. (i.v.) 55 Serumproben, 1 Urinprobe , 46 Blutdruckmessungen
- ➔ M. W. (i.v.) 139 Serumproben, 10 Urinproben, 123 Blutdruckmessungen

2.4 Kriterien der Patientenselektion

2.4.1 Einschlusskriterien

Vorraussetzung für die Teilnahme an der Studie war, dass bei den Patienten ein histologisch nachgewiesenes Plattenepithelkarzinom des Epi-, Oro-, Hypopharynx oder der Mundhöhle festgestellt wurde. Die Glandula parotis musste beidseits vollständig im RT- Volumen liegen und mit einer Gesamtstrahlendosis von mindestens 45 Gy behandelt werden. Die Patienten sollten mindestens 18 Jahre alt sein und eine geschätzte Lebenserwartung von mindestens 6 Monaten aufweisen. Bei den weiblichen Patienten war außerdem ein negativer Schwangerschaftstest und eine ausreichende Kontrazeption im gebärfähigen Alter zu beachten. Die Patienten mussten dem Performance-Status gemäß ECOG/WHO ≤ 2 oder einem Karnofsky-Index von mindestens 70% entsprechen. Die Indikation zur Strahlentherapie ergab sich nach Operationen mit R0-, R1- oder R2-Resektion bzw. bei primär inoperablen Patienten.

Es musste bei den Patienten eine ausreichende renale Funktion entsprechend einem Serumkreatinin unter 1,5 mg/dl bzw. eine Kreatinin-Clearance von mindestens 60ml/min vorhanden sein. Bezüglich der hepatischen Funktion war ein Serum-Bilirubin von unter 2,0 mg/dl Voraussetzung.

Ein weiteres Kriterium zur Studienteilnahme war die Information des Patienten über die Studie und dessen schriftliche Einwilligung zur Teilnahme gemäß den Maßgaben des Arzneimittelgesetzes sowie der Ethikkommission. Mit einbezogen werden musste auch die zu erwartende Compliance des Patienten während der Therapie und im Follow-up.

2.4.2 Ausschlusskriterien

Nicht zur Studienteilnahme zugelassen wurden Patienten, bei denen schon eine Vorbehandlung mit einer Strahlentherapie, mit Zytostatika oder mit Zytokinen erfolgt war. Ebenfalls nicht teilnehmen durften Patienten mit schwerwiegenden internistischen Begleiterkrankungen, Schwangere und Stillende sowie Patienten mit einer arteriellen Hypertonie oder Hypotonie bzw. Patienten bei denen schon

Fernmetastasen bestanden. Ausgeschlossen wurden darüber hinaus Patienten, bei denen eine andere, gleichzeitig bestehende Erkrankung oder Situation bestand, die nach dem Urteil des behandelnden Arztes, den Patienten bei Studienteilnahme einem zusätzlichen Risiko aussetzen würde oder mit den Studienzielen interferiert.

2.4.3 Abbruchkriterien

Patienten mussten aus der Studie ausscheiden, wenn es während der Behandlung zu einer Tumorprogression (nach mindestens 50 Gy) kam oder wenn Fernmetastasen auftraten. Auch eine nicht akzeptable Toxizität, eine medizinisch erzwungene Therapieverschiebung um mehr als 2 Wochen und eine Verschlechterung des Allgemeinzustandes des Patienten über den WHO Grad 2 führten zum Abbruch der Studienteilnahme.

Weitere Abbruchkriterien waren eine Weigerung des Patienten zur weiteren Teilnahme, ein Kontaktverlust und der Tod.

Trotz der genannten Abbruchkriterien war es nach den Regeln der "Good Clinical Practice Research Practice" erforderlich, alle randomisierten Patienten mit in die Analyse einzubeziehen, auch wenn deren Behandlung nicht protokollgerecht durchgeführt werden konnte. Es war deshalb unumgänglich, auch bei Protokollverletzung, die Patienten möglichst umfassend weiter zu dokumentieren.

2.5 Klinische und pharmakokinetische Dokumentation

2.5.1 Klinische Dokumentation

2.5.1.1 Basisdokumentation bei Aufnahme

Im Rahmen der Anamnese wurden, neben den Vor- und Begleiterkrankungen des Patienten, auch das Alter, die Größe, das Geschlecht, das Gewicht und die Körperoberfläche erfasst. Zudem wurden der Alkohol- und Nikotinabusus erfasst. Außerdem wurde eine klinische Untersuchung mit Beurteilung des

Allgemeinzustandes nach den Kriterien der WHO/ECOG und mit Erfassung der Krankheitssymptome sowie des funktionellen Status durchgeführt.

Das vorhandene Tumorstadium wurde je nach Indikation mit folgenden Mitteln erfasst: Palpation, Panendoskopie und ggfs. Fotodokumentation, Halssonographie, Abdomensonographie, Röntgen (Thorax), Computertomographie des Primärtumors und der Lymphabflusswege, Operationsbefund, Histologie. Zur Erfassung der hämatologischen Parameter wurden die Werte für die Leukozyten, die Thrombozyten sowie das Hämoglobin bestimmt. Für die Bestimmung der Werte der klinischen Chemie wurden Kreatinin, SGOT, SGPT, Bilirubin, Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid und Magnesium erfasst.

2.5.1.2 Verlaufsdocumentation und Follow-up

Die Verlaufsdocumentation, das Therapieende sowie das Follow-up wurden entsprechend der folgenden Übersicht erfasst.

Tabelle 2: Dokumentationsbogen zur Erfassung des Patientenstatus mit dem Therapiebeginn beginnend

Untersuchung	Aufnahme vor Beginn*	Therapiephase		Therapieende	Follow-up (über 2 Jahre) alle 3 Monate
		Tag 1 jeder Woche	Tag 5 jeder Woche		
Anamnese	+				
Hat. Untersuchung	+			+	+
Tumor, -ansprechen	+			+	+
Funktionelle Störungen	+			+	+
Bildgeb. Verfahren	+***			+***	+***
Blutbild	+	+	+		
Klinische Chemie	+	+	+		
Körpergewicht	+		+	+	+
Allgemeinzustand	+		+	+	+
Symptome /Toxizität (akut, CTC)	+		+		
Symptome /Toxizität (chron., RTOG)	+			+	+
sonst. UE**			+	+	+
Pharmakokinetik		gemäß Tabelle 2			

* Wenn zwischen Aufnahmeuntersuchung und Therapiebeginn (Tag 1) mehr als 7 Abstand Tage lagen, waren die Untersuchungen (mit Ausnahme der allgemeinen- und Tumoranamnese) erneut durchzuführen

** Unerwünschte Ereignisse

*** Soweit indiziert; Follow-up in Anlehnung an Ausgangsbefunde

2.5.2 Pharmakokinetische Dokumentation

Die pharmakokinetische Dokumentation wurde anhand nachfolgender Tabelle durchgeführt.

Tabelle 3: Pharmakokinetische und RR-Verlaufsdokumentation

Plasma	Urinfraktion	RR-Verlauf
--------	--------------	------------

Soll-Zeit/Minuten	Ist-Zeit /Minuten	Soll-Zeit/ Minuten	Ist-Zeit/ Minuten	Fraktionsnummer	
0		0		1	
Max (5 Min)		Max (5 Min)		2	
10		10		3	
15		15		4	
20		20		5	
30		30			
40		40			
50		50			
60		60			
90		90			
120		120			
180		180			
240		240			
300		300			
360		360			

Der Zeitpunkt 0 Minuten markiert den Ausgangspunkt vor Amifostingabe. Der Zeitpunkt Max entspricht der Blutabnahme bei Beendigung der Infusion.

2.6 Beschreibung der Patienten

2.6.1 Patienten der Gruppe 1 (= subkutane Applikation von Amifostin)

2.6.1.1 Beschreibung der Patientin Nr. 1

Die Patientin Nr. 1 trägt die Initialen W. B. und war zum Zeitpunkt der Studienteilnahme 70 Jahre alt. Bei der Aufnahmeuntersuchung betrug ihr Körpergewicht 47 kg und die Körpergröße 147 cm.

Bei ihr wurde ein Alveolarfortsatzcarcinom links Regio 34-38 (computertomographisch T2-3, N2, nicht mittellinienüberschreitend, Infiltration in den basalen Zungenkörper nicht auszuschließen, submandibulär und jugodigastrisch je ein Lymphknoten von 1,5 cm mit der Histologie eines mittelhoch ausdifferenziertes verhornendes Plattenepithelkarzinom im Stadium pT1 pN1 MO) diagnostiziert.

An Nebendiagnosen wurden bei der Patientin eine 2-Gefäß-KHK und ein Zustand nach Myokardinfarkt (1996) festgestellt.

Eine supraomohyoidale Lymphknotenausräumung rechts sowie eine Tumoresektion, eine Unterkieferresection und eine Neckdissection links wurden im Januar 2000 durchgeführt. Die Thorax- und Szintigraphieaufnahmen waren unauffällig.

Die Patientin Nr. 1 wurde für die Dauer von 45 Tagen radiotherapeutisch behandelt (06.03.2000 bis 19.04.2000). Sie wurde dabei mit einer Einzeldosis von 2 Gy an 5 Tagen der Woche bis zum Erreichen der Gesamtdosis von 64 Gy bestrahlt.

Ihr wurden an 32 Bestrahlungstagen je 500 mg Amifostin subkutan injiziert. Dabei konnten insgesamt 150 Blut- und 54 Urinproben gewonnen und 148 Blutdruckmessungen durchgeführt werden.

2.6.1.2 Beschreibung des Patienten Nr. 2

Der Patient Nr. 2 trägt die Initialen M. J. und war zum Zeitpunkt der Studienteilnahme 51 Jahre alt. Bei der Aufnahmeuntersuchung betrug sein Körpergewicht 51 kg und die Körpergröße 176 cm.

Bei ihm wurde ein supraglottisches Larynxcarzinoms links ventrolateral sowie ein rechtsseitiges Hypopharynxcarcinom im Januar 2000 diagnostiziert. Ein Staging ergab keinen Hinweis auf eine Fernmetastasierung (Stadium pT2 pN2b M0, G2, L1, R0).

Als Nebendiagnose wurde bei dem Patienten ein Zustand nach Hepatitis im Jugendalter festgestellt.

Im Februar wurden eine supraglottische Kehlkopfteilresektion, eine Pharynxteilresektion, eine funktionelle Neckdissection beidseits und eine Tracheotomie durchgeführt.

Der Patient Nr. 2 wurde für die Dauer von 50 Tagen radiotherapeutisch behandelt (15.03.2000 bis 03.05.2000, außerplanmäßige Bestrahlungspausen an 4 Tagen: 07.04., 21.04., 24.04., 01.05.). Er wurde dabei mit einer Einzeldosis von 2 Gy an 5 Tagen der Woche bis zum Erreichen der Gesamtdosis von 64 Gy bestrahlt.

Ihm wurden an 2 Bestrahlungstagen je 500 mg Amifostin subkutan injiziert. Dabei konnten insgesamt 13 Blutproben aber keine Urinprobe gewonnen sowie 13 Blutdruckmessungen durchgeführt werden.

2.6.1.3 Beschreibung des Patienten Nr. 3

Der Patient Nr. 3 trägt die Initialen N. H. und war zum Zeitpunkt der Studienteilnahme 70 Jahre alt. Bei der Aufnahmeuntersuchung betrug sein Körpergewicht 57,3 kg und die Körpergröße 169 cm.

Bei ihm wurde ein glottisches Larynxcarcinom rechts im Januar 2000 diagnostiziert festgestellt (Stadium pT3 pN0 M0(C2)).

Als Nebendiagnose wurde bei dem Patienten eine arterielle Hypertonie festgestellt.

Es erfolgte eine Laryngektomie und eine selektive Neckdissection Level II bis III beidseits

Der Patient Nr. 3 wurde für die Dauer von 52 Tagen radiotherapeutisch behandelt (27.03.2000 bis 17.05.2000, außerplanmäßige Bestrahlungspausen an 6 Tagen: 07.04., 21.04., 24.04., 01.05., 08.05., 09.05.). Er wurde dabei mit einer Einzeldosis von 2 Gy an 5 Tagen der Woche bis zum Erreichen der Gesamtdosis von 64 Gy bestrahlt.

Ihm wurden an 35 Bestrahlungstagen je 500 mg Amifostin subkutan injiziert. Dabei konnten insgesamt 107 Blut- und 6 Urinproben gewonnen sowie 100 Blutdruckmessungen durchgeführt werden.

2.6.1.4 Beschreibung des Patienten Nr. 4

Der Patient Nr. 4 trägt die Initialen S. H. und war zum Zeitpunkt der Studienteilnahme 66 Jahre alt. Bei der Aufnahmeuntersuchung lag das Körpergewicht bei 75,2 kg und die Körpergröße betrug 178 cm.

Bei Ihm wurde im April 2000 ein Oropharynxcarcinom an der rechten Wange in der Tonsillenloge diagnostiziert (Stadium pT4 pN1 (1/61) C2 M0 G2).

Es wurden keine Nebendiagnosen festgestellt.

Es erfolgte eine Parotidektomie rechts mit Tumorresektion, eine Defektdeckung mit einem gestieltem Unterarmklappen, eine submandibuläre und supraomohyoidale Lymphknotenausräumung rechts, eine funktionelle Neckdissection rechts und eine supraomohyoidale Lymphknotenausräumung links.

Im Juli 2000 wurde ein Tumorrezidiv mit einer Destruktion der Kieferhöhlenwand und des Orbitaboden bis zum Schädeldach festgestellt und die Behandlung daraufhin entsprechend geändert.

Der Patient Nr. 4 wurde für die Dauer von 47 Tagen radiotherapeutisch behandelt (29.06.2000 bis 15.08.2000, außerplanmäßige Bestrahlungspausen an 2 Tagen: 27.07., 28.07.). Er wurde dabei mit einer Einzeldosis zwischen 1,4 bis 2 Gy an 5 Tagen der Woche bis zum Erreichen der Gesamtdosis von 70,2 Gy bestrahlt.

Ihm wurden an 21 Bestrahlungstagen (03.07.2000 bis 31.07.2000) je 500 mg Amifostin subkutan injiziert. Dabei konnten insgesamt 95 Blutproben und eine Urinprobe gewonnen sowie 79 Blutdruckmessungen durchgeführt werden.

2.6.1.5 Beschreibung des Patienten Nr. 5

Der Patient Nr. 5 trägt die Initialen W. E. und war zum Zeitpunkt der Studienteilnahme 59 Jahre alt. Bei der Aufnahmeuntersuchung betrug sein Körpergewicht 75 kg und die Körpergröße 185 cm.

Bei ihm wurde ein Tonsillen-Carcinom rechts mit Übergreifen auf den rechten Nasopharynx und den rechten Gaumenbogen im April 2000 diagnostiziert (Stadium pT4 pN2c M0).

An Nebendiagnosen wurden bei dem Patienten ein Zustand nach Herzinfarkt, nach einem Lungenödem und nach dreifacher Penisoperation festgestellt.

Es erfolgte eine Resektion mit mikrovaskulärem Dünndarmtransplantat, eine funktionelle Neckdissection rechts und eine supraomohyoidale Lymphknoten-ausräumung links.

Der Patient Nr. 5 wurde für die Dauer von 45 Tagen radiotherapeutisch behandelt (10.07.2000 bis 23.08.2000, keine außerplanmäßige Bestrahlungspausen). Er wurde dabei mit einer Einzeldosis von 2 Gy an 5 Tagen der Woche bis zum Erreichen der Gesamtdosis von 64 Gy bestrahlt.

Ihm wurden an 29 Bestrahlungstagen je 500 mg Amifostin subkutan injiziert. Dabei konnten insgesamt 83 Blut- und 5 Urinproben gewonnen sowie 60 Blutdruckmessungen durchgeführt werden.

2.6.2 Patienten der Gruppe 2 (= intravenöse Applikation von Amifostin)

2.6.2.1 Beschreibung des Patienten Nr. 6

Der Patient Nr. 6 trägt die Initialen T.V. und war zum Zeitpunkt der Studienteilnahme 41 Jahre alt. Bei der Aufnahmeuntersuchung betrug sein Körpergewicht 82,0 kg und die Körpergröße 186 cm.

Bei ihm wurde ein Oropharynx-Carcinoms rechts mit Beteiligung der Zunge, des Zungenrandes und des Mundbodens im Februar 2000 diagnostiziert (Stadium pT3 pN0 M0).

Es wurden keine Nebendiagnosen festgestellt.

Es erfolgte eine enorale Zungenteilresektion und eine Neckdissection beidseits. Außerdem erfolgte bei nicht tumorfreien Absetzungsrändern eine Zungennachresektion im März 2000.

Der Patient Nr. 6 wurde für die Dauer von 51 Tagen radiotherapeutisch behandelt (04.04.2000 bis 24.05.2000, außerplanmäßige Bestrahlungspausen an 4 Tagen 21.4., 24.4., 01.05., 19.05.). Er wurde dabei mit einer Einzeldosis von 2 Gy an 5 Tagen der Woche bis zum Erreichen der Gesamtdosis von 64 Gy bestrahlt.

Ihm wurden an 32 Bestragungstagen je 500 mg Amifostin intravenös injiziert (Beginn 06.04.2000). Dabei konnten insgesamt 73 Blut- und 6 Urinproben gewonnen sowie 56 Blutdruckmessungen durchgeführt werden.

2.6.2.2 Beschreibung der Patientin Nr. 7

Die Patientin Nr. 7 trägt die Initialen S. E. und war zum Zeitpunkt der Studienteilnahme 51 Jahre alt. Bei der Aufnahmeuntersuchung betrug ihr Körpergewicht 60 kg bei einer Körpergröße von 168 cm.

Bei ihr wurde ein Hypopharynx/Larynx-Carcinom im September 2000 diagnostiziert (Stadium pT2 pN2b(2/13) M0).

Es wurden keine Nebendiagnosen festgestellt.

Im Oktober 2000 erfolgte eine Laryngektomie mit radikaler Neckdissection rechts und einer HGS-Revision links. Außerdem wurde mittels eines Radialislappens eine Laryngoplastik und eine suprastomatale (postoperativ) Fistel gebildet.

Die Patientin Nr. 7 wurde für die Dauer von 42 Tagen radiotherapeutisch behandelt (04.01.2001 bis 14.02.2001; keine außerplanmäßige Bestrahlungspausen). Sie wurde dabei mit einer Einzeldosis von 2,0 Gy bis zum Erreichen einer Gesamtdosis von 60 Gy bestrahlt.

Der Patientin Nr. 7 wurde an 30 Bestrahlungstagen Amifostin injiziert (500 mg Amifostin intravenös bis zum 05.02.2001, danach 320 mg entsprechend 200 mg pro Quadratmeter Körperoberfläche). Dabei konnten insgesamt 117 Blut- und 5 Urinproben gewonnen und 83 Blutdruckmessungen durchgeführt werden.

2.6.2.3 Beschreibung des Patienten Nr. 8

Der Patient Nr. 8 trägt die Initialen B. W. und war zum Zeitpunkt der Studienteilnahme 67 Jahre alt. Bei der Aufnahmeuntersuchung betrug sein Körpergewicht 86 kg bei einer Körpergröße von 171 cm.

Im Juli 2000 wurde bei ihm ein Larynx-Carcinom diagnostiziert (Stadium T2 N0(0/18) M0).

Als Nebendiagnose wies der Patient Nr. 8 einen 40-jährigen Nikotinabusus auf. Ebenfalls im Juli 2000 erfolgte eine Kehlkopfteilresektion mit einer funktionellen Neckdissection. Aufgrund eines Progresses erfolgten im September und im Oktober 2000 je eine Lasernachresektion.

Der Patient Nr. 8 wurde für die Dauer von 45 Tagen radiotherapeutisch behandelt (05.02.2001 bis 21.03.2001; keine außerplanmäßigen Bestrahlungspausen). Er wurde dabei mit einer Einzeldosis von 2,0 Gy an 5 Tagen der Woche bis zum Erreichen der Gesamtdosis von 64 Gy bestrahlt.

Ihm wurden an 32 Bestrahlungstagen je 400 mg Amifostin intravenös injiziert. Dabei konnten insgesamt 55 Blutproben und 1 Urinprobe gewonnen sowie 46 Blutdruckmessungen durchgeführt werden.

2.6.2.4 Beschreibung des Patienten Nr. 9

Der Patient Nr. 9 trägt die Initialen M. W. und war zum Zeitpunkt der Studienteilnahme 47 Jahre alt. Bei der Aufnahmeuntersuchung betrug sein Körpergewicht 60,1 kg und die Körpergröße 165 cm.

Im März 2001 wurde ein Oropharynx-Carcinom der rechten Vallecula diagnostiziert (Stadium pT1 pN2c M0).

Es wurden keine Nebendiagnosen festgestellt.

Im April 2001 erfolgte eine enorale Tumorresektion im Bereich der Vallecula, eine radikale Neck dissection links sowie eine selektive Neckdissection links (Level II-IV).

Der Patient Nr. 9 wurde für die Dauer von 47 Tagen radiotherapeutisch behandelt (07.06.2001 bis 23.07.2001, außerplanmäßige Bestrahlungspausen an einem Tag: 14.06.). Er wurde dabei mit einer Einzeldosis von 2,0 Gy an 5 Tagen der Woche bis zum Erreichen der Gesamtdosis von 64 Gy bestrahlt.

Ihm wurden an 31 Bestrahlungstagen je 500 mg Amifostin intravenös injiziert (Beginn 08.06.2001). Dabei konnten insgesamt 139 Blut- und 10 Urinproben gewonnen sowie 123 Blutdruckmessungen durchgeführt werden.

2.7 Beteiligte Institutionen

Die Analytik von Amifostin und seiner Metabolite in Plasma und Urin erfolgte in der Abteilung Pharmakologie Antineoplastischer Substanzen der Inneren Klinik und Poliklinik (Tumorforschung) des Universitätsklinikums Essen unter der Leitung von Dr. rer. nat. R.A. Hilger.

3. Ergebnisse

3.1 Pharmakokinetische Ergebnisse

In die Auswertung der pharmakokinetischen Ergebnissen wurde die Pharmakokinetik von Amifostin, der von der alkalischen Phosphatase dephosphorylierte Metabolit WR-1065 und die symmetrischen (WR-33278) und gemischten Disulfide mit einbezogen.

An der Studie nahmen insgesamt 9 Patienten teil, die in 2 Gruppen aufgeteilt wurden (vgl. Abbildung 2). Die Gruppe, bei der eine subkutane Applikation erfolgte, bestand aus 5 Patienten und die Gruppe mit der intravenösen Applikation aus 4 Patienten. Alle Patienten erhielten eine postoperative Radiotherapie (RT) mit einer Einzeldosis (ED) von 1,4 bis 2,0 Gy und eine Gesamtdosis (GD) zwischen 56 und 64 Gy.

Die Studiensubstanz Amifostin wurde in diesen 2 Behandlungsgruppen verabreicht, in der Subkutanen mit einer Dosis von 500 mg absolut, und in der Intravenösen mit einer Absolutdosis von 320 – 500 mg. In beiden Gruppen wurde Amifostin für 6 bis 7 Wochen an 5 Tagen pro Woche zwischen 30 bis 45 Minuten vor einer fraktionierten Radiotherapie verabreicht (vgl. Abbildung 2).

Um eine mögliche Bioverfügbarkeit bzw. eine Kumulation von Amifostin und seiner Metaboliten feststellen zu können, wurden für die über 800 Blutproben mehr als 2100 Einzelanalysen durchgeführt (vgl. Abbildung 2). Die renale Ausscheidung wurde an ca. 100 Urinproben untersucht.

Einen zusammenfassenden Überblick über die Anzahl der Patienten und der gewonnen Proben der beiden Gruppen (s.c., i.v.) gibt die Abbildung 2.

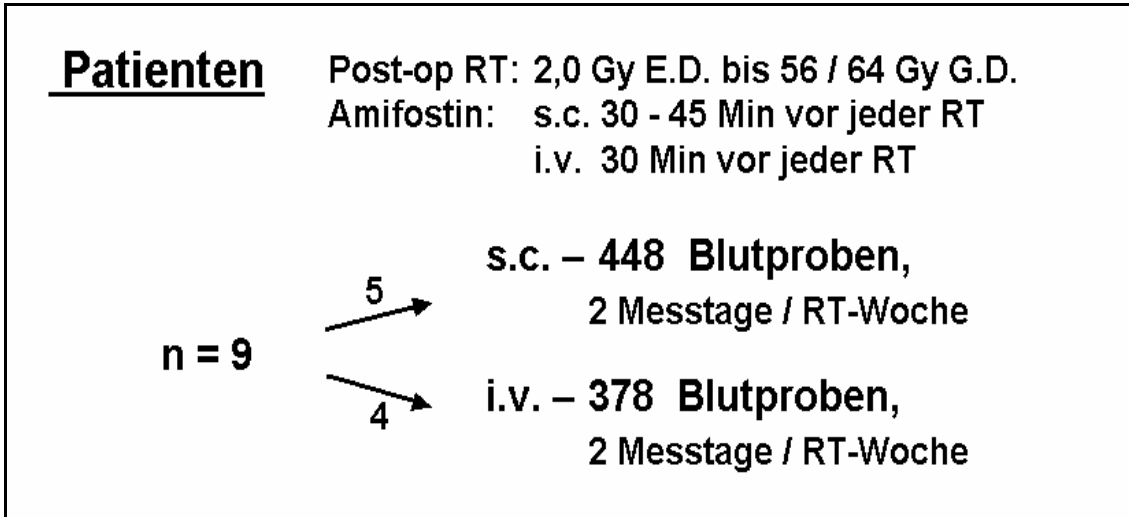


Abbildung 2: Übersicht über die beiden Behandlungsgruppen und die gewonnenen Blutproben

Die Analyse der pharmakokinetischen Werte (quantitative Messung) von Amifostin, von WR-1065 und von den Disulfiden wurde mit der im Kapitel 2.3.1.4 beschriebenen RP-HPLC Methode durchgeführt.

Amifostin wurde dabei durch eine saure Hydrolyse in seinen aktiven Metaboliten WR-1065 überführt, die Disulfide durch Reduktion mit Dithiothreitol ebenfalls zu WR-1065 umgesetzt. Die Quantifizierung von Amifostin als auch seiner korrespondierenden Disulfide erfolgte nach der Umsetzung durch eine Subtraktion der initial gemessenen WR-1065 Spiegel.

Die untere Bestimmungsgrenze lag in diesem System bei 10ng/ml WR-1065. Die Richtigkeit sowohl innerhalb eines Tages als auch zwischen den Messtagen lag zwischen 5% und 15% , die Präzision lag bei 8%.

In Abbildung 3 ist ein typisches Chromatogramm dieser Methode für die Analyse des Metaboliten WR-1065 dargestellt. Die untere graue Linie im Chromatogramm stellt den Verlauf einer Plasmaanalyse ohne WR-1065 dar, die obere schwarze Linie zeigt den Verlauf bei Zugabe von 40ng/ml WR-1065. Dabei ist deutlich der abweichende Ausschlag bei vorhandenem WR-1065 zu sehen.

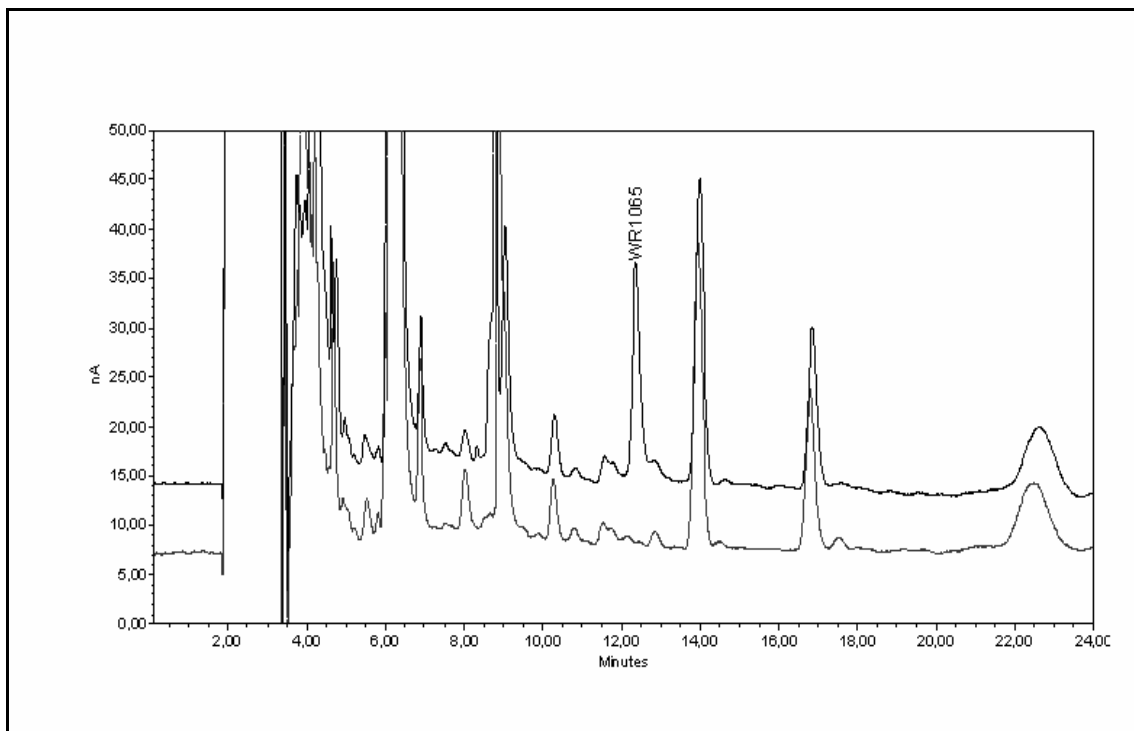


Abbildung 3: Chromatogramm für die Analyse von WR-1065

3.1.1 Auswertung der Pharmakokinetik von Amifostin

Tabelle 4: Pharmakokinetische Ergebnisse von Amifostin

Tabelle 4		Amifostin (nach s.c. Gabe)			Amifostin (nach i.v. Gabe)		
Parameter	Einheit	Mittelwert	Stdabw.	N	Mittelwert	Stdabw.	N
MRT	min	102	67	33	117	72	28
VSS	ml	246165	183197	34	189786	118372	28
AUC	ng/ml* min =	461994	400113	35	392893	247527	28
	µmol/l* min	2156	1868		1834	1156	
Cmax calc	ng/ml	3557	3006	35	11418	8584	28
	= µmol/l	15,67	14,03		53,3	40,09	
Tmax calc	min	35	22	35	6	1	28
T _{1/2} Vert.	Min				5	4	28
T _{1/2} β term.	Min	79	57	33	107	63	27
CL	ml/min	1676	1078	34	1868	1240	28

In der Tabelle 4 ist eine Gegenüberstellung der pharmakokinetischen Werte für die subkutane und die intravenöse Applikation von Amifostin dargestellt.

Nach einer intravenösen Verabreichung von 500 mg Amifostin folgt eine Eliminationsphase der Verteilungsphase. Nach einer subkutanen Verabreichung der identischen Menge, wird die Verteilungsphase von einer Absorptionsphase überlagert. Sichtbar ist auch, dass nach einer subkutanen Applikation eine signifikante Menge Amifostin den Kreislauf erreicht (vgl. AUC bzw. Cmax).

Die ermittelten pharmakokinetischen Parameter für die subkutane Applikation von Amifostin weisen auf eine hohe Bioverfügbarkeit der Prodrug hin. Durch die hohen intra- und interindividuellen Variationen in der Verteilung und Eliminierung der Substanz ist mit der untersuchten Fallzahl kein signifikanter Unterschied in der Bioverfügbarkeit nach einer subkutanen Gabe im Vergleich zu einer intravenösen Gabe festzustellen (Bioverfügbarkeit $f = AUC\ s.c./AUC\ i.v.$). Die Bioverfügbarkeit kann somit zu 1 bzw. zu 100% angegeben werden.

Das hohe Verteilungsvolumen im steady state (V_{ss}) deutet auf eine hohe systemische Verteilung von Amifostin hin. Bei diesem Parameter, als auch bei der mittleren Verweildauer im System (MRT) und der totalen Clearance (CL), können keine statistisch signifikanten Unterschiede bestimmt werden.

Bedingt durch die kurze Infusionsdauer der intravenösen Applikation (T_{max}) kommt es zu einer recht hohen und frühen Peakplasmakonzentration (C_{max}). Diese übertrifft die berechneten Peakplasmakonzentrationen der subkutanen Dosierung im Mittel um das 3-fache (statistisch signifikant $P = <0,001$).

Nach einer subkutanen Applikation kann nur die terminale Halbwertszeit bestimmt werden, da die kürzeren Halbwertszeiten der Verteilung (1 oder 2 Kompartimente) durch die Absorption in das zentrale Kompartiment überlagert wird. So ist die maximale Plasmakonzentration nach subkutaner Gabe erst nach (im Mittel) 35 Minuten erreicht. Die terminale Halbwertszeit ist nach Berechnungen mit dem Mann-Whitney Rank Sum Test für die intravenöse Verabreichung von Amifostin um ca. 20 min länger als für die subkutane Applikation ($P = 0,009$).

Eine grafische Darstellung des Verlaufs der Pharmakokinetik von Amifostin ergibt sich aus der Abbildung 4. Hierbei entspricht die gestrichelte Linie den interpolierten Werten der intravenösen Route (berechnet mit der Software Kinetica 2000, siehe Kapitel 2), die schwarze Linie der subkutanen Route von 500 mg Amifostin. Die jeweiligen Punkte stellen die gemessenen Werte dar.

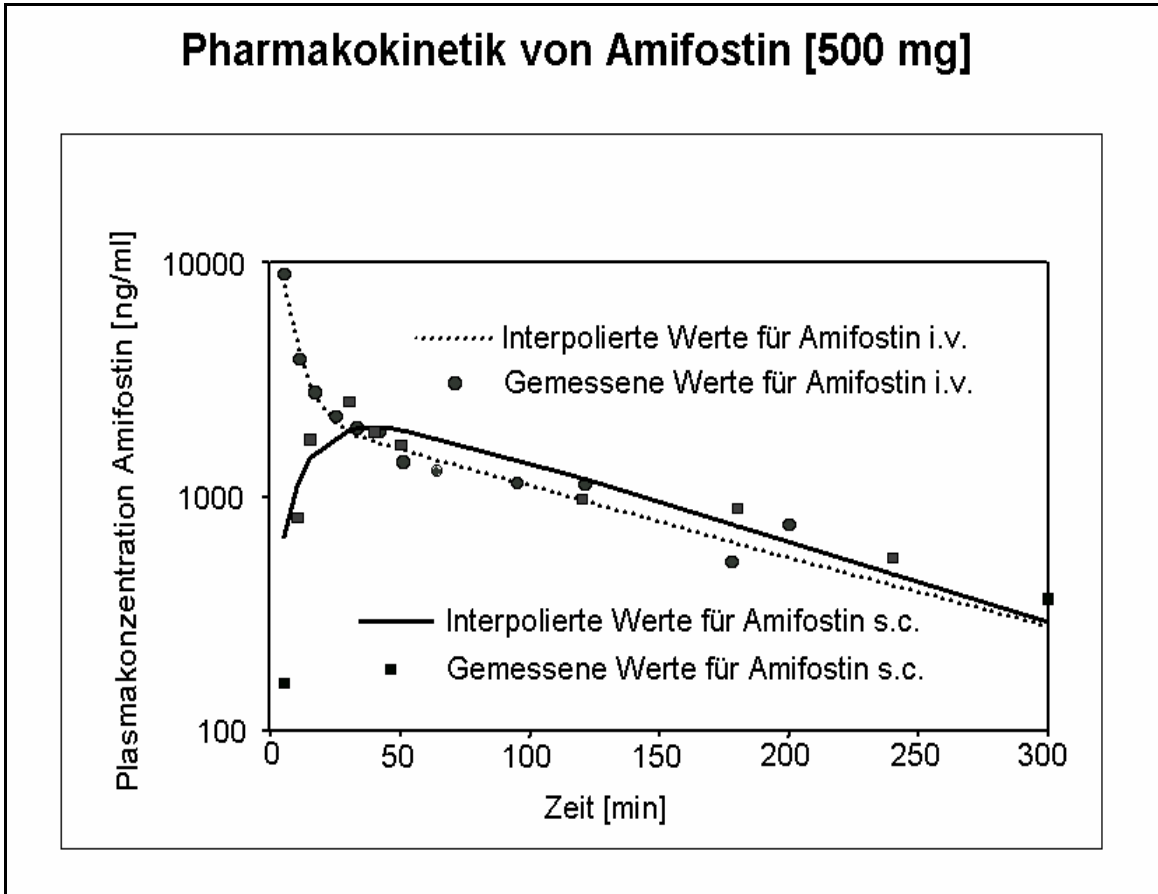


Abbildung 4: Exemplarische Kinetiken nach subkutaner als auch nach intravenöser Applikation

3.1.2 Auswertung der Pharmakokinetik von WR-1065

Die Tabelle 5 zeigt die Werte für den pharmakokinetischen Verlauf von WR-1065 im Plasma, sowohl für die intravenöse als auch für die subkutane Verabreichung von Amifostin.

Tabelle 5: Pharmakokinetische Ergebnisse des aktiven Metaboliten WR-1065

Tabelle 5		WR1065 (nach s.c. Gabe)			WR1065 (nach i.v. Gabe)		
Parameter	Einheit	Mittelwert	Stdabw.	N	Mittelwert	Stdabw.	N
MRT	Min	43	35	35	70	42	28
VSS	ml	773660	903513	35	866662	625144	28
AUC	ng/ml* min =	89933	64183	35	48469	33454	28
	µmol/l* min	419,81	299,61		226,25	156,16	
Cmax calc	ng/ml =	1362	1241	35	2229	1289	28
	µmol/l	6,36	5,79		10,41	6,02	
Tmax calc	min	28	19	35	6	2	28
T _{1/2} α	min				8	5	28
T _{1/2} β	min	31	25	35	111	78	28
CL	ml/min	7975	6114	34	13654	7086	28

Für den aktiven Metaboliten WR1065 wurden ähnliche Beobachtungen wie für das Prodrug gemacht.

Die Bioverfügbarkeit (AUC) ist nach einer subkutanen Gabe von Amifostin für den Wirkstoff nicht geringer als nach einer direkten Gabe in das zentrale Kompartiment. Im Gegenteil, nach Berechnungen mit dem Mann-Whitney Rank Sum Test ist die beobachtete Erhöhung der AUC für WR-1065 nach einer subkutanen Gabe von Amifostin im Vergleich zur intravenösen Dosierung statistisch signifikant ($P = <0,001$).

Die maximale Konzentration (Cmax) ist bei der intravenösen Gabe im Unterschied zur subkutanen Gabe ebenfalls statistisch signifikant erhöht ($P =$

<0,001). Die beobachtete maximale Halbwertszeit (T_{max}) ist nach einer subkutanen Gabe für den aktiven Metaboliten, wie auch schon für das Amifostin, signifikant erhöht ($P = <0,001$).

Mit einem P von 0,004 bzw. $<0,001$ unterscheiden sich zwei weitere Parameter, die mittlere Verweildauer im System (MRT) und die Clearance (CL), signifikant. Dabei wird nach einer intravenösen Gabe eine längere mittlere Verweildauer bei gleichzeitig erhöhter Clearance berechnet.

In der untenstehenden Abbildung 5 sieht man für die Bioverfügbarkeit des aktiven Metaboliten WR-1065 einen ähnlichen Kurvenverlauf sowohl für die subkutane als auch intravenöse Route wie für das Prodrug Amifostin.

Der schnellen Anflutung und Elimination bei der intravenösen Verabreichung steht eine langsamere Anflutung als auch Elimination sowie ein späterer Zeitpunkt der maximalen Konzentration der Subkutanen gegenüber.

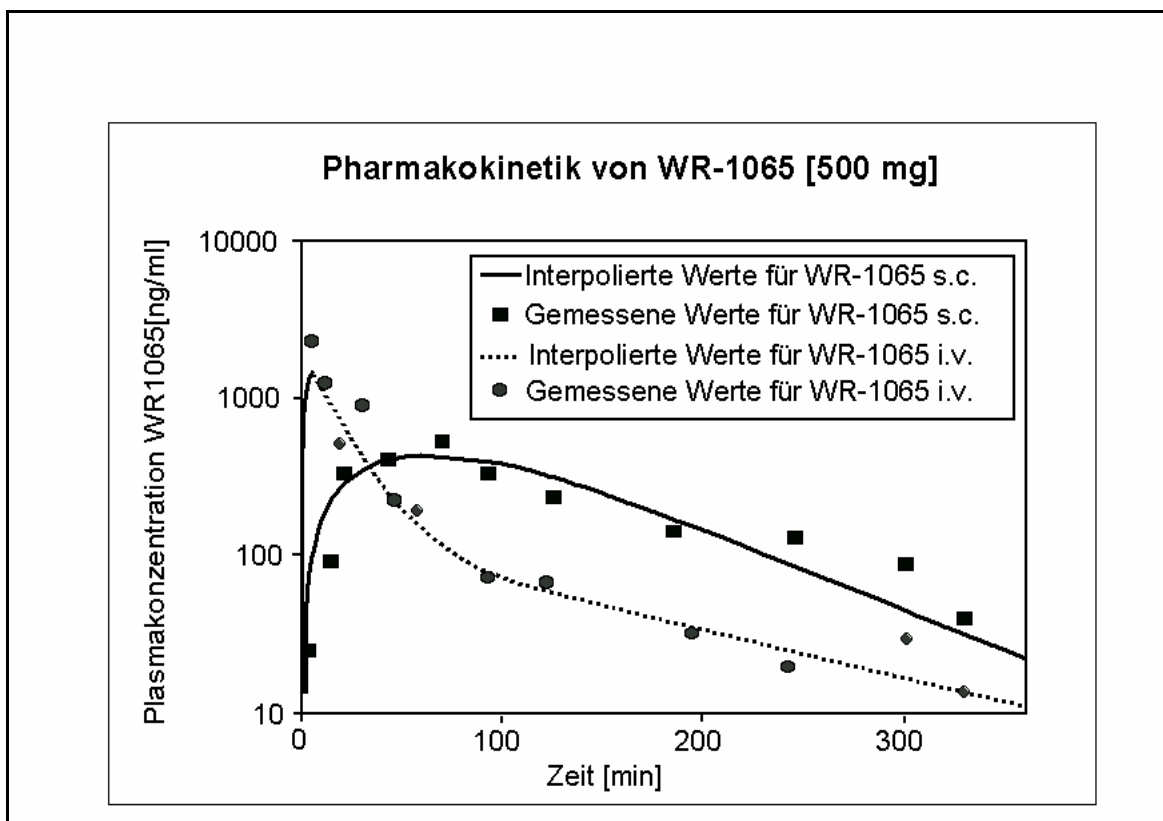


Abbildung 5: Grafische Darstellung des Verlaufs des aktiven Metaboliten WR-1065 nach subkutaner und intravenöser Applikation

3.1.3 Auswertung der Pharmakokinetik der Disulfide

Tabelle 6: Pharmakokinetische Ergebnisse der Disulfide

Tabelle 6		Disulfide (nach s.c. Gabe)			Disulfide (nach i.v. Gabe).		
Parameter	Einheit	Mittelwert	Stdabw.	N	Mittelwert	Stdabw.	N
MRT	min	190	139	20	253	265	20
VSS	ml	4018983	16094216	20	355055	486922	20
AUC	ng/ml*	8117298	23307571	20	592438	500250	20
	min = µmol/l* min	37891	108799		2756,50	2335,17	
Cmax calc	ng/ml	29064	101689	20	4668	1869	20
	= µmol/l	135	474		21,79	8,73	
Tmax calc	min	80	88	20	6	1	20
T _{1/2} α	min				9	18	16
T _{1/2} β	min	128	93	22	198	233	20
CL	ml/min	15949	50321	18	1920	1367	20

Die größere Bioverfügbarkeit (AUC) der Dithiole nach subkutaner Gabe von Amifostin ist nach Berechnungen mit dem Mann-Whitney Rank Sum Test statistisch signifikant (P = 0,026).

Ebenfalls statistisch signifikant ist die verlängerte maximale Halbwertszeit (Tmax) nach subkutaner Gabe (P = <0,001).

Alle anderen pharmakokinetischen Parameter unterscheiden sich nicht signifikant.

Bei der Messung und Auswertung der Pharmakokinetik der (gemischten) Disulfide ist anzumerken, dass ein Teil der eingesandten Proben nicht prozessierbar war, so dass sich die Fallzahl auf ca. 20 Proben pro Behandlungsarm reduziert hat.

3.1.4 Zusammenfassung der pharmakokinetischen Ergebnisse

Bei einer subkutanen Anwendung von Amifostin ist eine Bioverfügbarkeit zu 100% gegeben. Zusätzlich ließ sich eine systemisch höhere Bioverfügbarkeit (AUC) sowohl für den aktiven Metaboliten WR-1065 als auch für die Dithiole ermitteln.

Der nicht vorhandene Peakplasmaspiegel im subkutanen Behandlungsarm im Vergleich zum Intravenösen muss mit einer möglichen besseren Verträglichkeit korreliert werden.

Aus pharmakokinetischer Sicht ermöglicht sich mit dem deutlich vergrößertem Zeitfenster (Abbildung 5 und Tabelle 5) eine verbesserte Praktikabilität bei der Durchführung der sich anschließenden Strahlentherapie.

3.2 Vergleichende grafische Darstellungen

Die Abbildungen 6 und 7 stellen die Verläufe der maximalen Konzentrationen (C_{max}) von Amifostin, von WR-1065 und von den Disulfiden für die subkutane und intravenöse Applikation grafisch dar. Diese Darstellungen zeigen je einen exemplarischen Verlauf über den gesamten Therapiezeitraum eines Patienten. Bei einem Vergleich der beiden Abbildungen fällt auf, dass besonders die Konzentrationen für die Disulfide bei der subkutanen Route einen höheren Wert annehmen als bei der Intravenösen

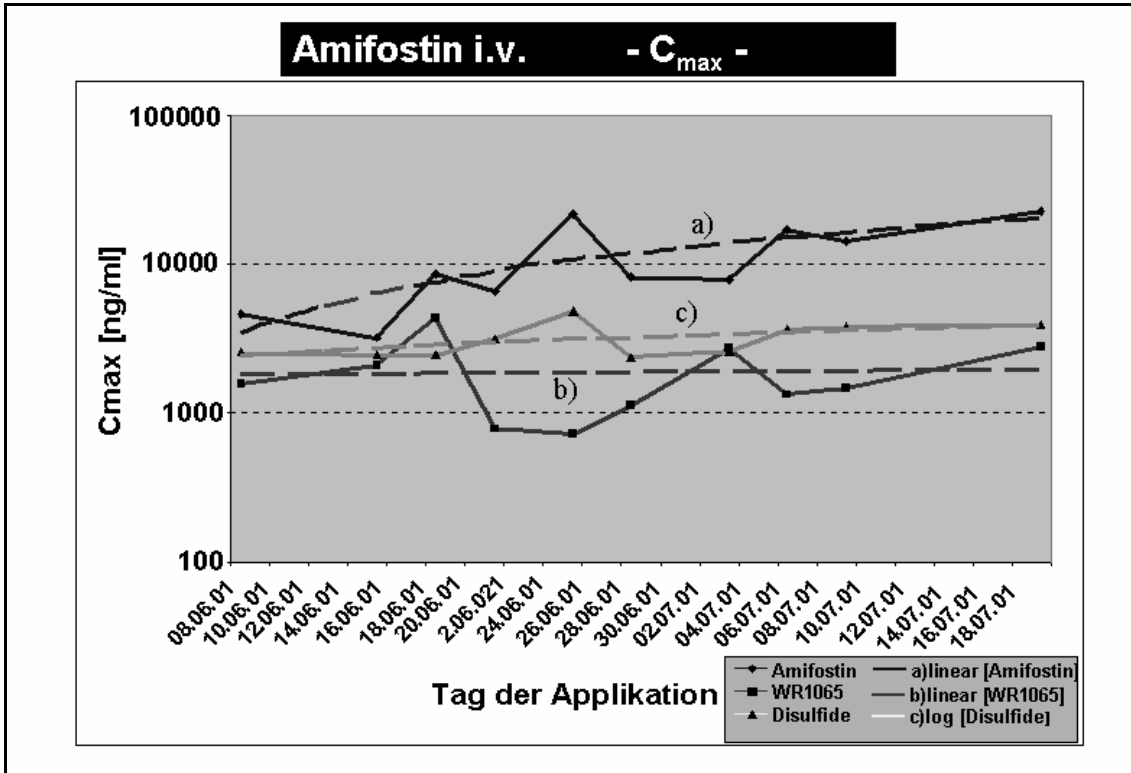


Abbildung 6: Maximale Konzentrationen der 3 gemessenen Substanzen bei einem intravenös behandelten Patienten über den gesamten Therapiezeitraum

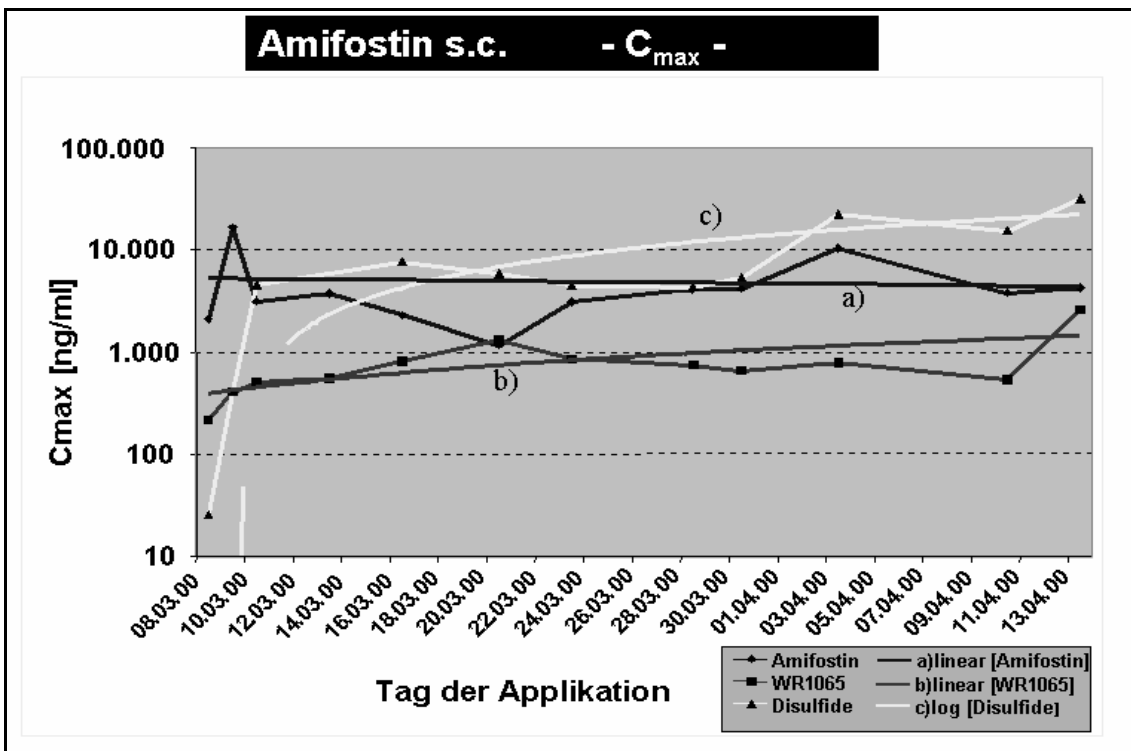


Abbildung 7: Maximale Konzentrationen der 3 gemessenen Substanzen bei einem subkutan behandelten Patienten über den gesamten Therapiezeitraum

Eine weitere grafische Darstellung ergibt sich auch anhand der Werte der Bioverfügbarkeit (AUC) beider Patienten im Vergleich.

In der folgenden Abbildung 8 sieht man den Verlauf der Bioverfügbarkeiten (AUC) aller Metaboliten für den Patienten mit der intravenösen Verabreichung über den gesamten Therapiezeitraum.

Im Vergleich dazu fällt auf, dass in der darauffolgenden Abbildung 9 für die subkutane Behandlung erhöhte Werte für die Bioverfügbarkeit (AUC) erreicht werden. Dies gilt wieder insbesondere für die Disulfide.

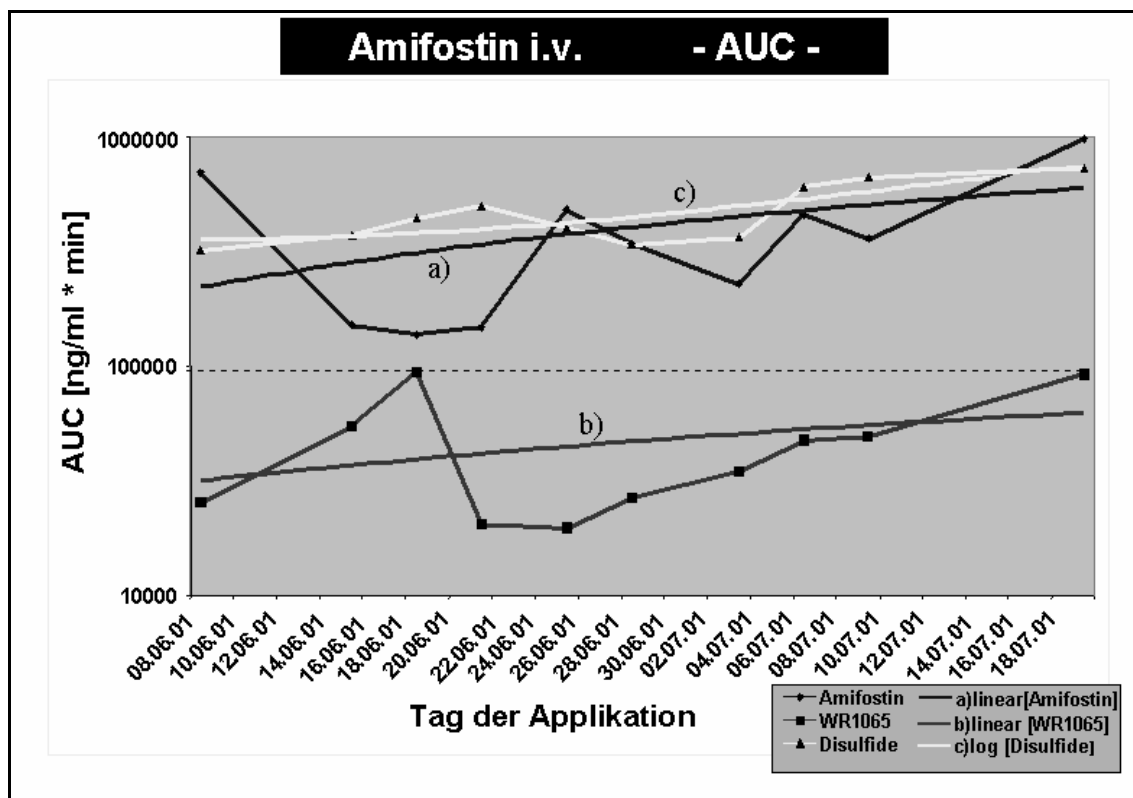


Abbildung 8: Exemplarischer Verlauf der AUC aller Metaboliten für einen intravenös behandelten Patienten (gesamte Therapiedauer)

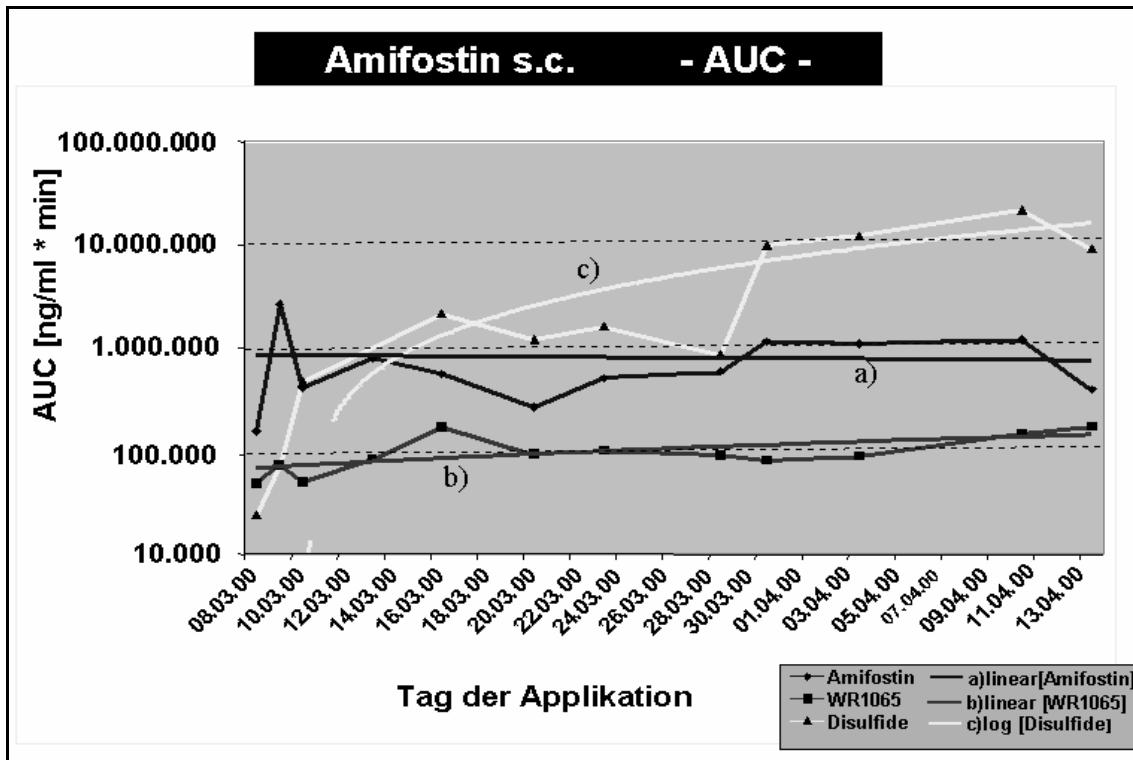


Abbildung 9: Exemplarischer Verlauf der AUC aller Metaboliten für einen subkutan behandelten Patienten (gesamte Therapiedauer)

Für den Patienten mit der subkutanen Verabreichung ist aus der Abbildung 10 ersichtlich, dass es mit zunehmender Therapiedauer zu einer Verlängerung sämtlicher Halbwertszeiten der drei gemessenen Parameter kommt. Auch hier betrifft diese Verlängerung wiederum ausgeprägt die Disulfide.

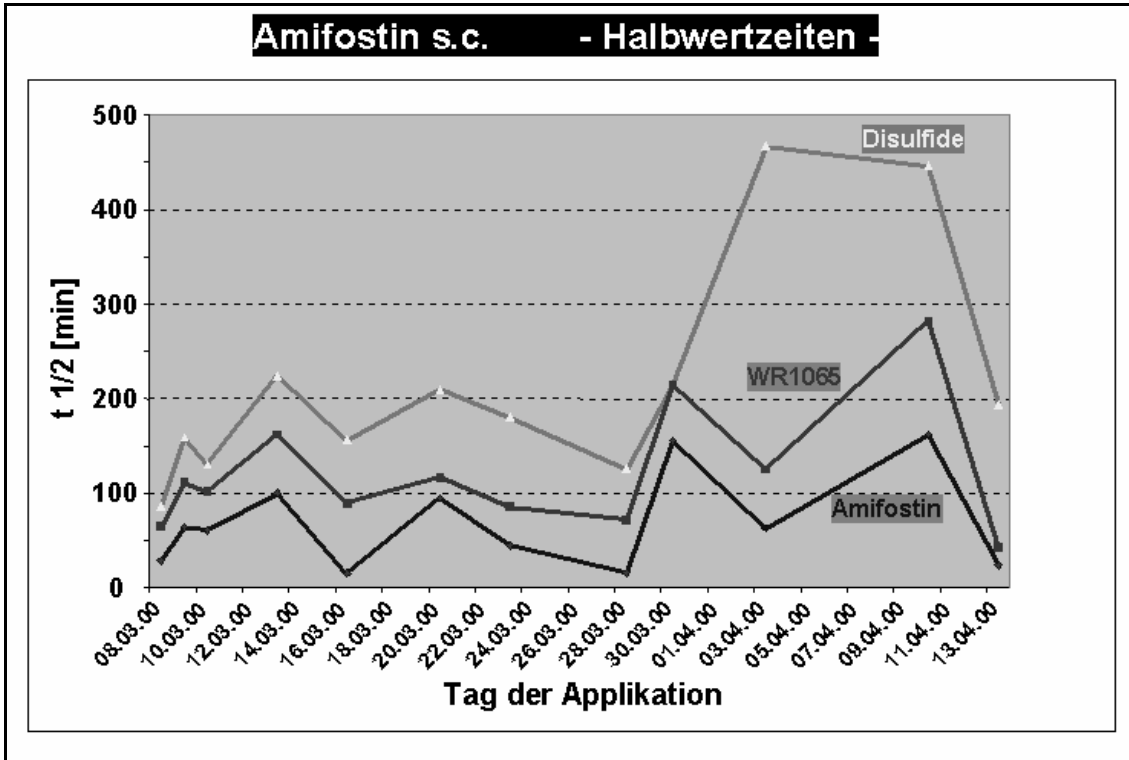


Abbildung 10: Halbwertzeiten aller Metaboliten im subkutanen Therapieverlauf

3.3 Klinische Ergebnisse

Die klinischen Ergebnisse und Nebenwirkungen wurden anhand der in Kapitel 2 beschriebenen Kriterien nach CTC/CTCAE erfasst.

3.3.1 Blutdruckverlauf im Rahmen der Therapie

Bei den neun an der Studie teilnehmenden Patienten wurden insgesamt 708 Blutdruckmessungen durchgeführt. Dabei entfielen 308 Messungen auf die intravenöse Gruppe (4 Patienten) und 400 Messungen auf die subkutane Gruppe (5 Patienten).

Bei den Patienten der intravenösen Gruppe kam es zu keinem Zeitpunkt der Behandlung zu einer auffälligen Hypotonie oder Hypertonie. Dies entspricht dem CTC Grad 0.

Bei der subkutanen Gruppe kam es in einem Fall zu einer Hypotonie entsprechend dem Grad 2 CTC, die sich aber nach einer Flüssigkeitssubstitution normalisierte. In dieser Gruppe kam es außerdem bei drei Patienten an jeweils einem Behandlungstag zu einer Hypertonie Grad 2 CTC, die in einem Fall medikamentös behandelt wurde.

Keiner dieser Fälle führte zu einem Abbruch der Therapie.

Die folgende Abbildung 11 zeigt in dem oben stehenden Diagramm den exemplarischen RR-Verlauf für einen Patienten der subkutanen Gruppe (Patient B. W.), dem der Verlauf eines Patienten der intravenösen Gruppe (Patient M. W.) gegenübergestellt ist. Jeweils die obere schwarze Linie steht für die systolischen Werte, die untere graue Linie für die diastolischen Werte.

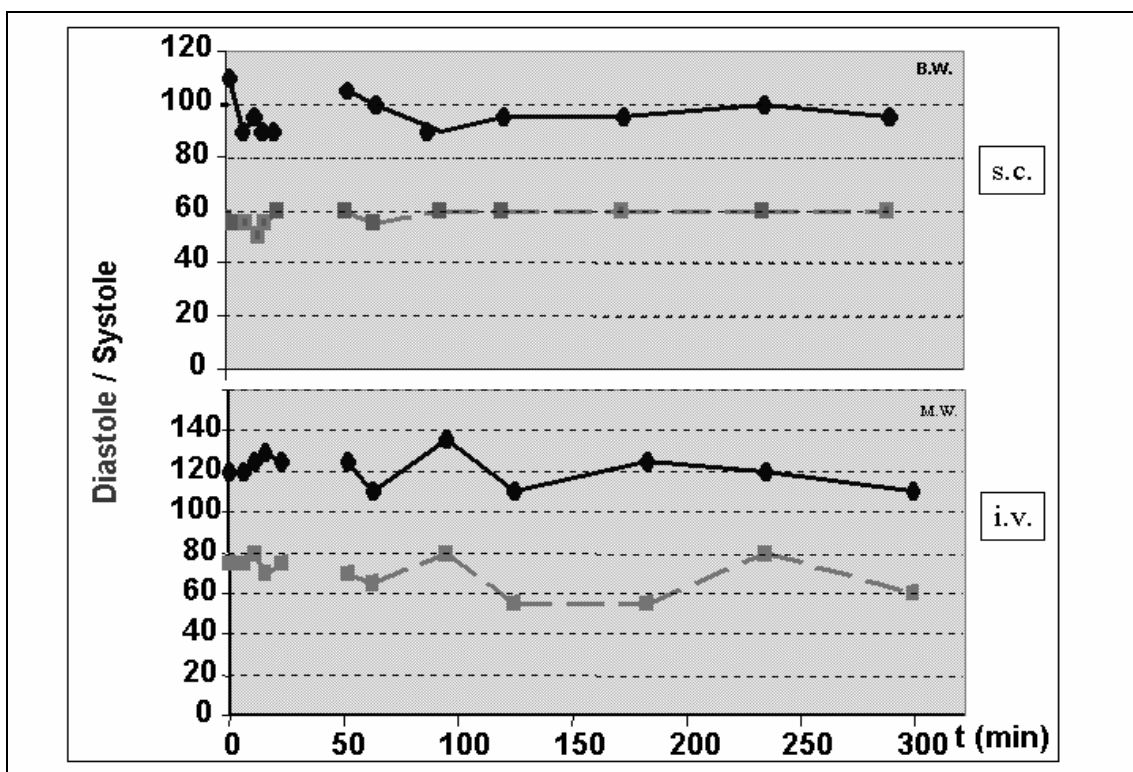


Abbildung 11: RR-Verlauf der subkutanen vs. intravenösen Applikation an je einem Therapietag

3.3.2 Nebenwirkungen nach CTC bei der subkutanen Gruppe

Die Abbildung 12 zeigt die aufgetretenen Nebenwirkungen nach CTC bei den 5 Patienten der subkutanen Gruppe.

Sonstige Nebenwirkungen [CTC] in der s.c.-Gruppe			
	Grad II	Grad III	Grad IV
Nausea / Emesis¹	2	1^a	0
Mucositis²	3	1	0
Dysphagie²	1	0	0
Blutbild¹	3	0	0
Hypocalzämie¹	0	0	0
Bewusstsein¹	2	1	0
Xerostomie²	1	1^b	0

^a Pat lehnt weitere Amifostingabe ab ^b im Verlauf Besserung zu II

¹ bezogen auf alle Behandlungstage ² bezogen auf Patienten

Abbildung 12: Nebenwirkungen nach CTC bei der subkutanen Gruppe

Bei zwei Patienten traten über den gesamten Behandlungszeitraum an vier Tagen Schmerzen bei der subkutanen Injektion auf.

Bei dem Patienten S. H. trat ein Progress der Grunderkrankung auf woraufhin die Amifostingabe nach 21 Behandlungstagen abgesetzt wurde

Wie aus der Abbildung 12 ersichtlich, kam es bei einem Fall der subkutanen Injektion zu einer ausgeprägten Nausea und Emesis (Patient M. J.) Grad 3 CTC, die auf Wunsch des Patienten zu einem Abbruch der Amofstingabe nach dem 2. Behandlungstag führte.

Bei einem weiteren Patienten kam es zu einer Mucositis Grad 3 CTC am Therapieende die sich im Verlauf der Nachsorge auf einen Grad 2 CTC verbesserte.

Die in der Abbildung 12 aufgeführten Blutbildveränderungen bestanden aus einem Hämoglobinabfall (Patient W. B. an einem Behandlungstag) und einem Leukozytenanstieg bei 2 Patienten (Patient M. J. und S. H. an je einem Behandlungstag).

Bei dem Patienten S. H. kam es an einem Behandlungstag zu einer Bewusstseinsstörungen Grad 3 CTC, die sich in Uneinsichtigkeit, Aggressivität und einer Wesensveränderung äußerte. Darüber hinaus kam es bei diesem Patienten an zwei Tagen zu einer Bewusstseinsstörung Grad 2 CTC, die sich in einer depressiven und somnolenten Stimmungslage äußerte.

Die in der Abbildung 12 aufgeführte Xerostomie Grad 3 CTC trat im Verlauf der Nachsorge bei der Patientin W. B. auf und besserte sich in der weiteren Nachsorge auf eine Xerostomie Grad 2 CTC. Eine Xerostomie Grad 2 CTC trat bei einem weiteren Patienten im Verlauf der Nachsorge auf (Patient N. H.) und besserte sich im weiteren Verlauf auf eine Xerostomie Grad 1 CTC.

Bei allen Patienten der subkutanen Gruppe kam es im Verlauf der Behandlung zu leichten Rötungen (Grad 1 CTC) der abdominellen Einstichstellen, in einem Fall zu einer ausgeprägten Rötung (Grad 2 CTC) an einem Tag. Dies besserte sich aber im Verlauf der Therapie und führte in keinem Fall zu einem Abbruch der Behandlung.

Zu einer Dyspnoe Grad 2 CTC kam es bei dem Patienten M. J. an 3 unterschiedlichen Behandlungstagen. Bei diesem Patienten bestanden anamnestisch allerdings schon vor Behandlungsbeginn eine zunehmende Dyspnoe. 2 Patienten (Patienten W. B., W. E.) mussten aufgrund einer Verschlechterung des Allgemeinzustandes stationär aufgenommen werden.

3.3.3 Nebenwirkungen nach CTC bei der intravenösen Gruppe

Die aufgetretenen Nebenwirkungen nach CTC der 4 Patienten der intravenösen Gruppe stellt die Abbildung 13 dar.

Sonstige Nebenwirkungen [CTC] in der i.v.-Gruppe			
	Grad II	Grad III	Grad IV
Nausea / Emesis¹	4	2	0
Mucositis²	2	1	0
Dysphagie²	3	1	0
Blutbild¹	1	0	0
Hypocalzämie¹	0	0	0
Bewusstsein¹	0	0	0
Xerostomie²	1	1	0

¹ bezogen auf alle Behandlungstage ² bezogen auf Patienten

Abbildung 13: Nebenwirkungen nach CTC bei der intravenösen Gruppe

Die Daten für eine Nausea und eine Emesis betreffen 2 Patienten. Die Patientin B. W. litt an 2 Tagen unter einer Nausea Grad 3 CTC und an 2 Tagen unter einer Emesis Grad 2 CTC. Die Patientin S. E. hatte eine Emesis Grad 2 CTC an 2 Behandlungstagen.

Bei 3 Patienten trat eine Mucositis auf, wobei der Patient T. V. eine Mucositis Grad 3 CTC und die Patienten S. E. und M. W. eine Mucositis Grad 2 CTC hatten.

Eine Dysphagie trat bei allen 4 Patienten der intravenösen Gruppe auf, wobei sie bei dem Patienten B. W. ausgeprägt (Grad 3 CTC) verlief.

Die in der Abbildung 13 aufgeführten Blutbildveränderungen äußerten sich bei dem Patienten M. W. an einem Behandlungstag in einem Hämoglobinabfall und einer Leukozytose.

Bei keinem der 4 intravenös behandelten Patienten kam es zu einer Hypocalzämie oder einer Bewusstseinsstörung.

Eine wiederholte Dyspnoe Grad 2 CTC trat bei einem Patienten (B. W.) an 2 unterschiedlichen Behandlungstagen auf. Außerdem musste eine dieser Patient am Ende der Therapie aufgrund einer Verschlechterung des Allgemeinzustandes stationär aufgenommen werden.

Die in Abbildung 13 aufgeführte Xerostomie Grad 3 CTC trat im Verlauf der Nachsorge bei dem Patienten B. W. auf. Ebenfalls wurde, im Rahmen der Nachsorge, bei dem Patienten T.V. eine Xerostomie Grad 2 CTC festgestellt.

4. Diskussion

Die Studiensubstanz Amifostin wird inzwischen in vielerlei Hinsicht im klinisch-onkologischen Alltag verwendet. In zahlreichen präklinischen (Cassat, 2003 b; 2002; Capizzi, 1999; 1996; Van der Vijgh, 1996) und klinischen Studien (Thorstad, 2003; Samuels 2003; Haddad, 2003; Bardet, 2002; Korst, 1996) konnte seine chemo- und radioprotektive Wirkung unter Beweis gestellt werden (Culy et al., 2001).

Dabei wird die Substanz vorwiegend auf dem intravenösen Weg verabreicht. In jüngster Zeit hingegen konzentriert sich das Interesse zunehmend auf alternative Applikationswege wie insbesondere eine orale oder eine subkutane Verabreichung (Bonner, 2002). Dies ist zum einen auf die geringeren Nebenwirkungen der Substanz bei der oralen bzw. subkutanen Applikation zurückzuführen, zum anderen stellen die alternativen Applikationswege eine starke Vereinfachung im klinischen Alltag dar.

Die intravenöse Applikation ist in Europa derzeit zugelassen für die Reduktion akuter und später Xerostomie bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren, für die Verringerung der kumulativen Nierentoxizität unter Cisplatin-Therapie bei Patienten mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom oder NSCLS sowie für die Begrenzung eines möglichen Neutropenierisikos unter Cyclophosphamid-/Cisplatin-Kombinationstherapie beim fortgeschrittenem Ovarialkarzinom.

Im Rahmen der alternativen Behandlungsmethoden konzentriert sich das Interesse auf die relative und absolute Bioverfügbarkeit von Amifostin, seines dephosphorylierten Metaboliten WR-1065 und den daraus entstehenden symmetrischen (WR-33278) und gemischten Disulfide. Von ebenso großer Bedeutung ist das mit der alternativen Verabreichung von Amifostin einhergehende Nebenwirkungsprofil.

In der vorliegenden Studie erfolgten erstmals gleichzeitig pharmakokinetische sowie klinische Untersuchungen zur subkutanen als auch intravenösen Applikation von Amifostin während der gesamten postoperativen Behandlungsdauer von Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren. Im Folgendem

werden die Ergebnisse dieser Untersuchung zu den Ergebnissen anderer aktueller und bereits abgeschlossener Studiengruppen kritisch beleuchtet und eine Schlussfolgerung für zukünftige Behandlungsoptionen dargestellt.

4.1 Patientengruppe

Es wurden 9 Patienten eingeschleust und auf einen subkutanen (= Gruppe 1 mit 5 Patienten) und einen intravenösen (= Gruppe 2 mit 4 Patienten) Behandlungsarm aufgeteilt. Jeder der 9 Patienten war an einem Kopf-Hals-Tumor ohne feststellbare Fernmetastasen erkrankt. Alle Patienten hatten sich bereits einer Operation unterzogen und wurden erstmalig radioonkologisch behandelt. Außerdem durfte keine Chemotherapie verabreicht werden (siehe Kapitel 2).

Thorstad et al. (2003) untersuchten 17 Patienten, bei denen eine subkutane Applikation erfolgt war, im Hinblick auf die Verhinderung einer möglichen Xerostomie sowie bezüglich auftretender klinischer Toxizitäten.

Eine umfangreiche multizentrische Studie zur Evaluation der Häufigkeit und Ausprägung von Nebenwirkungen der subkutanen Amifostingabe wurde von Samuels et al. (2003) veröffentlicht. Im Rahmen dieser Studie ist vorgesehen insgesamt 500 Patienten zu untersuchen, wobei bisher (d.h. bis zum Februar 2003) Daten von 101 der 500 Patienten auswertbar waren.

Sowohl in der Studie von Thorstad et al. wie auch in der Studie von Samuels et al. wurden keine intravenösen Vergleichsgruppen gebildet. Darüber hinaus wurden auch keine pharmakokinetischen Daten erhoben.

In einer Phase I Studie der University of Pennsylvania Medical Center wurde 12 gesunden männlichen Probanden eine subkutane als auch eine intravenöse Dosis Amifostin verabreicht und die Pharmakokinetik und das Nebenwirkungsprofil gemessen.

Koukourakis et al. (2000) führten eine randomisierte Phase II Studie der subkutanen Applikation an 140 Patienten durch, wobei 40 der Patienten an einem Tumor im Kopf-Hals-Bereich erkrankt waren. Ziel der Studie war es, die

Verträglichkeit, die Toleranz und den zytoprotektiven Effekt einer subkutanen Behandlung zu evaluieren.

Anné et al. (2002 a) untersuchten in einer Phase II Studie das klinische Outcome von 54 Patienten mit einer subkutanen Amifostinbehandlung.

Bezüglich der Patientenzahl zur Pharmakokinetik und klinischen Verträglichkeit existieren zahlreiche Studien lediglich für den intravenösen Weg. Eine umfangreiche Studie mit 315 Patienten wurde von Brizel et al. (2000) zur klinischen Wirksamkeit und Radioprotektion veröffentlicht. Shaw et al. verabreichten schon 1986 an 13 Tumorpatienten intravenös Amifostin und erhoben erste klinische Daten zur Pharmakokinetik.

Im Vergleich zu den bisher durchgeführten Studien erscheint die Patientenzahl in der vorliegenden Studie zunächst gering. Da jeder einzelne Patient aber über den gesamten Zeitraum der Behandlung (Therapiedauer 6-8 Wochen) überwacht und untersucht wurde, konnten umfangreiche Daten zur Pharmakokinetik als auch zur klinischen Verträglichkeit erhoben werden. Außerdem wurde durch die Beobachtung von 2 Patientengruppen (s.c./i.v.), im Gegensatz zu der meist einseitigen Ausrichtung der oben erwähnten Studien, konkrete Vergleichsmöglichkeiten geschaffen und Daten an realen Patienten gewonnen. Angesichts des langen Studienzeitraumes und der vielen Einzelanalysen war der Umfang der Datenerhebung im Ergebnis auch detailreicher als in vorangegangenen Studien.

4.2 Applikationsdosis/Applikationszeitfenster

In der subkutanen Behandlungsgruppe erhielten die Patienten eine Absolutdosis von 500 mg Amifostin im Zeitraum von 30 – 45 min vor einer Radiotherapie. Das Amifostin wurde in 0,9% NaCl auf 2,5 ml gelöst und an je 2 Injektionsorten (a 1,25 ml) subkutan verabreicht.

Ein entsprechendes Dosierungsschema wurde auch in anderen Studien verwendet. Thorstad et al. (2003) benutzten ein vergleichbares

Dosierungsschema, aber mit einem verlängertem Zeitfenster, nämlich im Zeitraum von 20 bis 60 Minuten.

In der offenen prospektiven Multicenter Studie von Samuels et al. (2003) wurde ein genauer Zeitrahmen nicht spezifiziert. Es war nur vorgesehen, dass die Gabe von Amifostin vor der jeweiligen Bestrahlung zu erfolgen hatte.

Anné et al. (2002) verabreichten ebenfalls eine absolute Dosis von 500 mg im Zeitraum von 45 – 75 Minuten vor einer Strahlentherapie.

Das gewählte Dosierungsschema für die Subkutangruppe ermöglichte somit eine gute Vergleichsmöglichkeit mit der entsprechenden Datenlage. Zudem korreliert das gewählte Zeitfenster optimal mit den pharmakokinetischen Daten (siehe Kapitel 3).

Der intravenösen Kontrollgruppe dieser Studie wurde eine Absolutdosis zwischen 320 mg und 500 mg Amifostin im Zeitraum von 15 – 30 min vor einer Radiotherapie verabreicht (als Kurzinfusion in 100ml 0,9% NaCl innerhalb von 5 – 10 min).

Die allgemein etablierte Dosis für eine alleinige radiotherapeutische Behandlung von Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren beträgt 200mg/m² (Culy et al., 2001; Brizel et al., 2000; Dorr et al., 1999). In anderen Studien wurden bei der intravenösen Applikation Dosierungen zwischen 150mg/m² (Bourhis et al., 2000), und 500mg/m² verwendet (Schönekas et al., 1999).

Die in dieser Studie verwendete intravenöse Dosierung variiert gegenüber den Dosierungen bisheriger Studien. Die teils höheren Dosierungen (500mg absolut) ermöglichen allerdings einen besseren Vergleich der pharmkokinetischen Parameter beider Gruppen.

4.3 Abnahmezeitpunkte und Probenumfang

Von den 9 Patienten wurden insgesamt 826 Blutproben (448 Proben der Subkutangruppe, 378 Proben der intravenösen Gruppe) entnommen. Dies erfolgte an je 2 Behandlungstagen pro Woche während der gesamten

Therapiedauer (6-7 Wochen). Hiervon erfolgten wiederum über 2100 Einzelanalysen des Plasmaspiegels von Amifostin und seiner Metaboliten.

An jedem Entnahmetag wurde die erste Blutprobe vor einer Amifostinapplikation entnommen. Die weiteren Zeitpunkte sind unter Kapitel 2.5.2 beschrieben (Abnahme nach 0, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360. Minuten).

Shaw et al. führten in einer der ersten pharmakokinetischen Studien (1986, 13 Patienten mit einer 10-sekündigen intravenösen Bolusdosis von 150mg/m² durch) die Abnahmen in einem kürzerem Intervall durch (Abnahme bei 0, 0,5, 1, 2, 2,5, 3, 4, 6, 8, 12, 15, 20, 30, 45 Minuten).

Eine stark verlängertes Abnahmeschema benutzten Korst et al (1997). In dieser Studie wurde 6 Patienten eine intravenöse Single-Dosis Amifostin verabreicht (740 und 910 mg/m² in einer 15-minütigen Kurzinfusion). Die pharmakokinetischen Messungen erfolgten nach 0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 10; 22; und 24 Stunden. Diese Patienten standen zusätzlich unter einer Cisplatin oder Carboplatin Behandlung.

Bonner et al. (2002) untersuchten an 12 gesunden männlichen Probanden die Pharmakokinetik für eine intravenöse Applikation von 200mg/m² Amifostin (7,5 min Kurzinfusion), für eine subkutane Dosis von 500mg absolut und eine orale Dosis von ebenfalls 500 mg absolut. Die Proben für die pharmakokinetischen Daten wurden zu den Zeitpunkten 0, 5, 10, 30, 45, 60, 120 und 240 Minuten für alle 3 Applikationswege abgenommen. Für die intravenöse Applikation wurden zusätzliche Proben abgenommen (2,5, 5, 7,5 und 20 Minuten).

Bei einem Vergleich der Abnahmezeitpunkte dieser Studie und der dargestellten Studien lässt sich feststellen, dass die Abnahme der Proben sowohl die kürzeren als auch die längeren Zeitpunkte umfassen und somit eine gute Vergleichbarkeit der Daten gegeben ist.

4.4 Probenverarbeitung und Analyseverfahren

Das genaue Vorgang der Probenverarbeitung ist in Kapitel 2.3.1.4 beschrieben. Die Proben wurden sofort nach der Entnahme bei 4°C gekühlt und zentrifugiert

Verwendet wurde das saure und mit Trichloressigsäure deproteinisierte Plasma zur Messung des aktiven Metaboliten WR-1065. Außerdem wurde ein weiterer Plasmaüberstand zur Berechnung der Disulfide und des Amifostins analysiert.

Korst et al. (1997) benutzen zur Quantifizierung das gleiche Verfahren. Das in der vorliegenden Studie benutzte Verfahren wurde in Anlehnung an das von Shaw et al. (1986 a) entwickelte Verfahren durchgeführt.

Bonner et al. (2002) führten eine ähnliche Verarbeitung der Proben durch, jedoch benutzten sie teils abweichende Inkubationszeiten bis zum Analysezeitpunkt. Außerdem führten sie eine Messung von WR-1065 im Vollblut durch. Dies stand unter dem Hintergrund, einerseits eine mögliche Oxidationen zu verhindern und andererseits sowohl die ungebundene als auch die an Plasmaproteine gebundene Form von WR-1065 zu ermitteln.

Die HPLC-Methode zur Messung von Amifostin und seiner Metaboliten wurde erstmals 1984 von Shaw et al. publiziert. Diese Messmethode beruht auf der Quantifizierung von WR-1065 und der darauffolgenden Berechnung der Prodrug und der Dithiole. In den dargestellten Studien wurde diese HPLC-Methode durchgängig zur Quantifizierung benutzt.

In neueren Studien wird eine direkte Messung aller untersuchter Parameter (Amifostin, WR-1065, Disulfide) durch die Verwendung eines zusätzlichen Fluoreszenzdetektors, neben dem bereits etablierten elektrochemischen Detektor, beschrieben (Bonner et al., 2000; Cassat et al. 2003 a; Shaw et al., 1996). Dieser Trend wird möglicherweise für weitere Studien von Bedeutung sein.

Festzustellen ist aber, dass eine optimale Vergleichsfähigkeit der pharmakokinetischen Daten anhand der angewandten Probenverarbeitung und Analysemethoden gegeben ist.

4.5 Pharmakokinetische Daten

Die pharmakokinetischen Ergebnisse wurden für beide Behandlungsgruppen in Kapitel 3.1 dargestellt. Hier erfolgt eine Gegenüberstellung der pharmakologischen Daten von Amifostin, WR-1065 und der Disulfide der vorliegenden Studie zu den Daten der bisherigen Studien. Diese Gegenüberstellung erfolgt dabei jeweils für die einzelne Substanz als auch für die jeweilige Patientengruppe.

4.5.1 Pharmakokinetische Analyse von Amifostin

In der Bioverfügbarkeit der Prodrug der beiden Behandlungsarme (AUC s.c. / AUC i.v.) ließ sich trotz der hohen Probenanzahl kein signifikanter Unterschied ermitteln und wurde daher mit 100% angegeben.

Shaw et al. (1999) ermittelten an 12 gesunden männlichen Probanden ein Verhältnis der Bioverfügbarkeit von durchschnittlich 72% (95% Konfidenzintervall 0,26 – 1,18; AUC s.c./AUC i.v.). Die subkutane Applikation erfolgte analog; für die intravenöse Applikation wurde eine Dosis von 200mg/m² verabreicht. Es wurde ,wie in der vorliegenden Studie, eine erhöhte inter- und intraindividuelle Variationsbreite für die subkutane Route festgestellt.

In einer neueren Arbeit von Bonner et al. (2002), wurde an ebenfalls 12 männlichen gesunden Probanden ein entsprechendes Dosierungsschema wie von Shaw et al. verwendet. Um eine Vergleichbarkeit zu erreichen, wurde die subkutane AUC auf eine Äquivalenzdosis der intravenösen AUC berechnet und eine signifikante Bioverfügbarkeit von 40% angegeben. Es kam ebenfalls wieder zu einer erhöhten Variationsbreite für die subkutane Applikation.

In der vorliegenden Studie waren die Mehrzahl der intravenösen Proben sowie sämtliche subkutane Proben mit einer Dosis von 500 mg Amifostin absolut in die Messung eingegangen um eine bessere Vergleichbarkeit der Absolutdosen zu erreichen.

Um signifikante Aussagen über das entsprechende Verhältnis der Bioverfügbarkeit zu machen ist sicherlich grundsätzlich eine erhöhte

Patientenzahl wünschenswert (auch um eine Nivellierung der inter- und intraindividuellen Variationsbreite zu erreichen). Demgegenüber steht der enorme Aufwand der Probengewinnung- und analytik.

In dieser Studie wurde ein hohes nicht signifikantes Verteilungsvolumen V_{ss} (für die subkutane Applikation von 246 l, S.D. 183 l; für die intravenöse Applikation 189 l S.D. 118 l) ermittelt, das auf eine hohe systemische Verteilung für die Prodrug hinweist.

Dieses Ergebnis steht völlig im Gegensatz zu den von Shaw et al. (1986 b) publizierten Daten eines Verteilungsvolumens von lediglich 6,44 l (S.D.1,46). Dabei wurden diese Daten im Rahmen einer Studie an 13 Patienten, denen eine Single-Bolus-Dosis von 150mg/m² Amifostin verabreicht wurde, ermittelt.

Für die in dieser Studie ermittelte mittlere Verweildauer (MRT) und die Clearance (CL) konnten ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede der beiden Behandlungsgruppen festgestellt werden.

Die ermittelten Werte der Clearance (s.c. 1,68 l/min, S.D. 1,08 l/min; i.v. 1,87 l/min, S.D. 1,24 l/min) decken sich annähernd mit den Werten von Bonner et al. (2002) (s.c. 1,66 l/min, S.D. 1,82 l/min; i.v. (200mg/m²) 1,48 l/min, S.D. 0,4). Shaw et al. (1986 b) kamen zu einer Clearance von 2,17 l/min, S.D. 0,39 l/min für die intravenöse Applikation.

Ebenso liegen unsere Werte im Bereich der von Shaw et al. 1999 publizierten Daten.

Im Ergebnis lässt sich somit eine schnelle Elimination der Prodrug aus dem Plasma feststellen und entspricht den Feststellungen der bisherigen Studien.

In der vorliegenden Studie übertrifft die intravenöse Peakplasmakonzentration statistisch signifikant die subkutane Peakplasmakonzentration im Mittel um das 3-fache ($C_{max\ calc}$ 15,67 μ mol/l S.D. 14,03 μ mol/l s.c. gegenüber i.v. $C_{max\ calc}$ 53,29 μ mol/l S.D. 40,08 μ mol/l).

Bonner et al. (2002) kamen für die subkutane Peakplasmakonzentration zu einem ähnlichen Ergebnis (C_{max} 16,3 μ mol/l, S.D. 8,2 μ mol/l) allerdings lagen

ihre intravenösen Werte (C_{\max} 104,9 $\mu\text{mol/l}$, S.D. 30,9 $\mu\text{mol/l}$) deutlich über unseren Werten.

Dies lässt sich aus der unterschiedlichen Abnahme der intravenösen Proben erklären. In unserer Studie wurden die Proben nach einer vollständig erfolgten Infusion von Amifostin entnommen. Bonner et al. verabreichten eine 7,5-minütige Infusion und nahmen die ersten Proben schon nach 5 Minuten. Der Abnahmezeitpunkt lag somit innerhalb der Infusionszeit.

In der vorliegenden Studie wurden die maximalen Konzentrationen für die Prodrug durchschnittlich nach 6 Minuten (S.D. 1 min) erreicht.

Dieses Ergebnis findet sich auch in ähnlichen Studien (Bonner et al. 6,3 min, S.D. 1,7 min; Korst et al. 1997 Konzentrationspeak am Ende einer 15-minütigen 740mg/m² Infusion).

Der Zeitpunkt der maximalen Plasmakonzentration lag für die subkutane Behandlungsgruppe bei 35 Minuten (S.D. 22). Bonner et al. stellten diesen Zeitpunkt bereits nach 23 Minuten (S.D. 13 min) fest.

Im Ergebnis entsprach also sowohl der Zeitpunkt wie auch die Quantität der Prodrug den Werten früherer Studien, wobei für die subkutane Gruppe eine leichte Verlängerung dieser Parameter festgestellt wurde.

Im Vergleich zu der Studie von Shaw et al. (1986 b) liegen die Halbwertzeiten der intravenösen Gruppe dieser Gruppe für die Verteilung ($T_{1/2 \text{ Vert.}}$) und die terminale Halbwertzeit ($T_{1/2 \beta}$) deutlich höher. Die Zeitangaben von Shaw et al. (0,9 min bzw. 8,8 min) deuten auf ein drittes Kompartiment hin, das noch vor den mit unseren Abnahmeschemata bestimmten Kompartimenten liegt. Dieses dritte Kompartiment konnte in der vorliegenden Studie aufgrund der fehlenden kurzen Abnahmenzeiten nach der intravenösen Gabe (notwendig sind z.B. 10 Abnahmen innerhalb der ersten 10 min) nicht ermittelt werden.

Bei den subkutanen Daten konnte in dieser Studie nur die terminale Halbwertzeit bestimmt werden, da die kürzeren Halbwertzeiten der Verteilung durch die Absorption in das zentrale Kompartiment überlagert wurden. Hierzu existieren bisher keine vergleichbaren Daten in der Literatur.

4.5.2 Pharmakokinetische Analyse von WR-1065

Die pharmakokinetische Analyse von WR-1065 unterscheidet sich grundsätzlich von der Analyse der Prodrug. Bei Messungen mit radioaktiv markierten C-Amifostin konnte gezeigt werden, dass es bei der Prodrug nicht zu einer Bindung an Plasmaproteine kommt (Shaw et al., 1997). Im Gegensatz dazu wurde bei Messungen mit WR-1065 eine signifikante Menge reversibel an Plasmaproteine gebunden (Shaw et al., 1994 a). Es ist daher möglich die freie und die gebundene Form von WR-1065 zu messen. In der vorliegenden Studie wurde allein eine Messung der freien, nicht an Plasmaproteine gebundenen Form, durchgeführt.

Die Bioverfügbarkeit des aktiven Metaboliten WR-1065 liegt im subkutanen Applikation statistisch signifikant über der Behandlungsgruppe der intravenösen Applikation (AUC s.c. 419,81 $\mu\text{mol/l}\cdot\text{min}$, S.D. 299,91 $\mu\text{mol/l}\cdot\text{min}$; AUC i.v. 226, 25 $\mu\text{mol/l}\cdot\text{min}$; S.D. 156,16 $\mu\text{mol/l}\cdot\text{min}$).

Im Vergleich zu Bonner et al. (2002) liegen die Werte der Bioverfügbarkeit dieser Studie für die subkutane Applikationsform über den von Bonner et al. ermittelten Werte (419 $\mu\text{mol/l}\cdot\text{min}$ gegenüber 332 $\mu\text{mol/l}\cdot\text{min}$ bei Bonner). Genau umgekehrt verhält es sich für die Bioverfügbarkeit bei der intravenösen Applikationsform (226 $\mu\text{mol/l}\cdot\text{min}$ gegenüber 447 $\mu\text{mol/l}\cdot\text{min}$ bei Bonner).

Bonner et al. ermittelten darüber hinaus ein Verhältnis der Bioverfügbarkeit von 68 % (i.v. vs. s.c., für die gebundene Form von WR-1065). Der Unterschied kann einerseits mit der unterschiedlichen Struktur des Patientengutes (Tumorpatienten vs. gesunde Probanden) sowie andererseits mit den unterschiedlichen Zeiten der Probenentnahme und gemessenen Form erklärt werden.

Für die Daten der maximalen Konzentration von WR-1065 konnte in der vorliegenden Studie eine statistisch signifikante Erhöhung für die intravenöse Gruppe ermittelt werden (i.v. $C_{\text{max calc}}$ 10,41 $\mu\text{mol/l}$, S.D. 6,02 $\mu\text{mol/l}$ vs. s.c. C_{max}

calc 6,36/l μmol , S.D. 5,79 $\mu\text{mol/l}$). Aufgrund der bereits dargestellten unterschiedlichen Meßmethoden (frei vs. gebundene Form von WR-1065) ist aber kein direkter Vergleich mit den Daten von Bonner et al. möglich. In dessen Untersuchungen wurden ebenso signifikant erhöhte Daten für den aktiven Metaboliten in der intravenösen Gruppe gemessen.

Die intravenöse Peakplasmakonzentrationen für den aktiven Metaboliten werden in der vorliegenden Studie im Mittel 6 min (S.D. 2 min) nach Applikation der Prodrug erreicht. Damit ist sie weitgehend mit der bisherigen Datenlage zur Pharmakokinetik von WR-1065 vergleichbar (Shaw et al., 1986; Korst et al. 1997).

Der Zeitpunkt für die Peakplasmakonzentration von WR-1065 der subkutanen Gruppe ist gegenüber der intravenösen Gruppe, wie schon für das Amifostin festgestellt, signifikant erhöht und liegt bei 28 min (S.D. 19 min). Der in dieser Studie ermittelte Zeitpunkt ist im Vergleich zu dem von Bonner et al. (2002) ermittelten Wert von 23 min (S.D. 13,6 min) leicht verlängert.

Die Verteilungshalbwertzeit $T_{1/2\alpha}$ der subkutanen Gruppe ließ sich aus den bereits dargestellten Gründen nicht ermitteln (vgl. Kapitel 4.5.1).

Die entsprechenden Werte der intravenösen Gruppe liegen etwas unter den von Korst et al. (1997) beschriebenen Daten (8 min vs. 10,8 min). Dies ist möglicherweise auf die erhöhte applizierte Dosis im Rahmen in dessen Studie (740 mg/m^2 vs. 320-500mg absolut) zurückzuführen.

Die Werte zur Eliminationshalbwertzeit $T_{1/2\beta}$ liegen bei der subkutanen Applikation deutlich unter den intravenösen Werten (31 min vs. 111 min). Dies deutet somit auf eine längere systemische Verweildauer des aktiven Metaboliten in der intravenösen Gruppe hin.

Korst et al. (1997) erreichten nochmals deutlich erhöhte Werte für die Eliminationshalbwertzeit von 438 min.

Sowohl die mittlere Verweildauer als auch die Clearance waren für WR-1065 in der intravenösen Gruppe der vorliegenden Studie signifikant erhöht (i.v. MRT 70 min, CL 13,6 l/min vs. i.v. MRT 43 min, CL 7,9 l/min).

Korst et al. lagen mit ihren MRT-Werten von 408 min für die intravenöse Applikation nochmals deutlich über diesen Werten.

Diese erhöhten Werte können möglicherweise mit der Hypothese von Shaw et al. (1994) erklärt werden. Shaw et al gingen nämlich davon aus, dass der Metabolismus von WR-1065 einer Sättigungskinetik unterliegt. Sie zeigten, dass eine Dosiserhöhung der Prodrug nicht zu einer entsprechend erhöhten Rate des aktiven Metaboliten führte und die Clearance bei einer erhöhten Dosis sogar niedriger war als bei einer geringeren.

Da in anderen Studien darüber hinaus keine Daten für die Clearance von WR-1065 ermittelt worden sind, kann hier auch kein weiterer Vergleich erfolgen.

Wie schon bei der Analyse der Prodrug wurde in der vorliegenden Studie auch im Rahmen der Analyse des aktiven Metaboliten ein enorm hohes Verteilungsvolumen für beide Behandlungsschemata festgestellt (s.c. 774 l S.D. 904 l vs. i.v. 867 l S.D. 625 l). Dies spricht ebenfalls für ein hohes systemische Verteilungsvolumen und damit zusammenhängend einer umfassenden Protektion der gesunden Zellen.

Im Metabolismus von Amifostin hat der aktive Metabolit WR-1065 den bisherigen präklinischen und klinischen Untersuchungen zufolge die größte radio- und chemoprotektive Bedeutung (Cassat et al., 2003 b; 2002; Culy et al. 2001).

Unter diesem Gesichtspunkt sind die in dieser Studie ermittelten Werte für eine signifikant erhöhte Bioverfügbarkeit sowie für einen späteren Zeitpunkt der maximalen Konzentration der subkutanen Applikation von großer klinischer Relevanz für den alternativen subkutanen Behandlungsweg.

4.5.3 Pharmakokinetische Analyse der Disulfide

Über den pharmakokinetischen Verlauf der symmetrischen (WR-33278) und gemischten Disulfide ist bisher sehr wenig bekannt. Weder in präklinischen Studien noch in Untersuchungen am Patienten wurden hierzu ausreichende Daten ermittelt.

In dieser Studie konnte eine statistisch signifikante Erhöhung der Bioverfügbarkeit der Disulfide sowie eine Verlängerung der maximalen Halbwertszeit in der subkutanen Behandlungsgruppe im Vergleich zur intravenösen Behandlungsgruppe festgestellt werden. Im Vergleich zu Amifostin und WR-1065 werden die Disulfide deutlich langsamer aus dem Plasma eliminiert. Die maximale Konzentration (C_{max}) liegt in der subkutanen Route deutlich über der der Intravenösen. (s.c. C_{max} 135 μmol , S.D. 474 μmol vs. i.v. C_{max} 21,79 μmol , S.D. 8,73 μmol).

Korst et al. (1997) berichteten im Rahmen einer intravenösen Behandlung von einer 10-fach erhöhten Peakplasmakonzentration. Dabei muss allerdings die erhöhte Applikationsmenge von 740 mg/m² beachtet werden.

Die in dieser Studie ermittelte Verteilungshalbwertszeit $T_{1/2\alpha}$ war im Vergleich zu der von Korst et al. festgestellten Verteilungshalbwertszeit verzögert (9 min vs. 3 min bei Korst et al.). Darüber hinaus wurde auch für die Eliminationshalbwertszeit $T_{1/2\beta}$ eine Verlängerung gegenüber den Daten von Korst et al festgestellt ($T_{1/2\beta}$ 198 min vs. 116 min bei Korst et al.).

Für die subkutanen Werte ermittelten wurde in dieser Studie eine deutlich kürzere Eliminationshalbwertszeit als in der Kontrollgruppe (s.c. $T_{1/2\beta}$ 128 min vs. i.v. 198 min) ermittelt. Die Clearancewerte waren in der subkutanen Gruppe wesentlich höher als in der Intravenösen (s.c. 16 l/min S.D. 50,3 l/min vs. i.v. 1,92 l/min S.D. 1,36 l/min) allerdings mit hoher Variationsbreite.

Hierzu wurden bisher in anderen Studien keine Daten erhoben.

Die klinische Bedeutung der absoluten Konzentration der Disulfide ist bisher nicht bekannt. Für die symmetrischen Disulfide ist eine gewisse protektive Wirkung bekannt (Treskes et al., 1992). Diese ist allerdings schwächer ausgeprägt als für den aktiven Metaboliten WR-1065. Interessant ist eine mögliche Funktion als Austauschpool für den aktiven Metaboliten (Shaw et al., 1994 a). Unter diesem Aspekt ist die hohe Bioverfügbarkeit, die hohe maximale Plasmakonzentration und deren späterer Zeitpunkt bei der subkutanen Applikation von Bedeutung.

4.6 Klinisches Profil

4.6.1 Blutdruckverlauf

In der vorliegenden Studie kam es in der intravenösen Behandlungsgruppe bei keinem Patienten zu einer ausgeprägten Blutdruckänderung (entsprechend einem CTC Grad 0).

In einer umfangreichen Phase III-Studie von Brizel et al. (2000) (153 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren; i.v. Applikation von 200mg/m² Amifostin) trat im Verlauf aller verabreichten Dosen in weniger als 1% der Fälle eine Hypotension auf. In 3 % der Fälle kam es an einem Behandlungstag zu einem Grad 3 CTC und in 15 % der Fälle zu einer meist nur kurz andauernden Hypotension.

Rades et al. (2004) stellten in 28% der Fälle eine Hypotension fest (10 % Grad 2 CTC, 18% Grad 3 CTC). Es wurden dabei insgesamt 39 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren behandelt und eine intravenöse Dosis zwischen 200 – 340 mg/m² Amifostin appliziert.

In unserer Studie, wie auch in den beschriebenen Studien, wurde die intravenöse Gruppe mit einer Kurzinfusion über den Zeitraum von 3 – 5 min behandelt. Möglicherweise ist eine noch kürzere Infusionsdauer (< 1 min) oder eine Bolusinfusion (10 sec) für eine intravenöse Applikation verträglicher (Boccia, 2002). In der vorliegenden Studie könnte unter Umständen die geringe Patientenzahl der intravenösen Gruppe eine Hypotension verdeckt haben.

In der Subkutangruppe ermittelten kam es bei einem Patienten an einem Behandlungstag zu einer Hypotonie Grad 2 CTC. Auffälligerweise kam es bei 3 Patienten an je einem Behandlungstag zu einer Hypertonie.

Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu den Daten von Koukourakis et al. (2000) (70 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren; 500 mg Amifostin s.c.). Hierbei kam es zwar in 2 Fällen (3%) zu einer Hypotonie Grad 1 CTC aber in keinem Fall zu einer Hypertonie.

In der Studie von Anné et al. (2002 a, b) an 54 Subkutanpatienten wird hingegen von keinem einzigem Fall einer Hypo- oder Hypertonie berichtet.

Insgesamt wird in der existierenden Literatur zur subkutanen Applikation von einer deutlich verringerten Toxizität bezüglich einer Hypotension berichtet. Mit unserer Patientenzahl ist diesbezüglich lediglich eine explorativer Aspekt gegeben. Das Auftreten einer Hypertonie bei einer subkutanen Applikation wurde erstmals in der vorliegenden Studie festgestellt.

4.6.2 Nebenwirkungen bei der subkutanen/intravenösen Applikation

Eine detaillierte Darstellung ist aus Kapitel 3.3.2 ersichtlich.

In der vorliegenden Untersuchung trat in der Subkutangruppe in 3 Fällen aller Behandlungstage eine Nausea/Emesis auf (2 Fälle Grad 2 CTC, 1 Fall Grad 3 CTC).

In der Studie von Kouourakis et al. (2000) konnte zwar bei 70 untersuchten Patienten kein einziger Fall Grad 3 CTC, aber in 33 % der Fälle (23 Patienten) ein Grad 1/2 CTC festgestellt werden.

In einer weiteren Untersuchung von Anné (2002 a) an 54 subkutan behandelten Patienten kam es in 22% der Fälle zu einer Nausea/Emesis.

Bardet et al.(2002) ermittelten in einer vorläufigen Auswertung an 54 Patienten eine etwas geringere Nausea- bzw. Emesisquote von 13 %.

Bei der intravenösen Applikation kam es doppelt so häufig zu einer Nausea oder einer Emesis (4 x Grad 2 CTC, 2 x Grad 3 CTC).

Ein verstärkte Auftreten dieser Nebenwirkungen bei der intravenösen Applikation wurde auch im Rahmen anderer Studien festgestellt (Brizel et al., 2000, 153 i.v. Patienten, 44 % Nausea, 37 % Emesis; Rades et al, 2004, 39 i.v. Patienten, 26 % Emesis).

Es lässt sich somit ein Trend von einer verringerten Übelkeit und eines Erbrechens sowohl bei uns als auch in der Literatur für die subkutane Behandlung feststellen.

Eine Mucositis trat bei 3 intravenös behandelten Patienten (2 Fälle Grad 2 CTC, 1 Fall Grad 3 CTC) und bei 4 subkutan behandelten. Patienten auf (3 Fälle Grad 2 CTC, 1 Fall Grad 3 CTC).

In einer der umfangreichsten Studie (148 Patienten) zur intravenösen Applikation von Amifostin erlitten 35 % eine akute Mucositis \geq Grad 3 CTC. Im Vergleichsarm (153 Patienten) mit einer alleinigen radiotherapeutischen Behandlung erkrankten 39 % der Patienten an einer akuten Mucositis \geq Grad 3 CTC (Brizel et al., 2000).

Ähnliche Daten für das Auftreten einer Mucositits werden auch für eine subkutane Applikation berichtet. In der Studie von Anné (2002) erkrankten 33 % von insgesamt 54 subkutan behandelten Patienten.

In einer Subkutanstudie von Koukourakis et al. (2000) an 19 Patienten trat hingegen kein Grad 3 CTC auf, so dass eine signifikante Reduktion einer Mucositits festzustellen war.

In unserer Studie wurde in beiden Behandlungsgruppen kein Unterschied bezüglich der Protektion einer Mucositis festgestellt. Wie oben dargestellt, sind auch die Ergebnisse anderer Studien unterschiedlich. Generell ist eine Protektion einer schweren Mucositis mit den hier verwendeten Dosen fraglich. Buntzel et al. (1998) favorisieren hierfür eine Dosierung von mehr als 300 mg/m².

Leichte Blutbildveränderungen (Grad 2 CTC) mit einem Hämoglobinabfall und einem Leukozytenanstieg wurde in der vorliegenden Studie für beide Applikationsrouten ermittelt. Sie waren von vorübergehender Natur und ohne Einfluss auf die Patientensicherheit. Vergleichbare Daten werden in dieser Form nicht beschrieben.

Das Auftreten einer Hypocalzämie wird in der Literatur mit < 1 % beschrieben (Culy et al., 2001) und kann mit oraler Calcium oder Vitamin D Substitution behandelt werden (Wadler et al., 1993, Glover et al., 1983). In keiner der beiden Gruppen kam es zu einer Hypocalzämie.

Eine Beeinträchtigung des Bewusstseins erlitt lediglich ein Patient in der subkutanen Gruppe an 3 Behandlungstagen (1 x Grad 3 CTC, 2 x Grad 2 CTC). Ob dieser Effekt auf die Amifostinapplikation oder auf die Progression seiner Grundkrankheit zurückzuführen war, blieb unklar.

Auch in einer Übersichtsarbeit von Dorr et al. (1999) wurde über Bewusstseinsstörungen berichtet. Diese äußerten sich in einer Schläfrigkeit der Patienten mit einer längeren Infusionsdauer (≥ 15 min) in 25 % der Fälle und bei einer kurzen Infusionsdauer (≤ 15 min) in 10 % der Fälle. Allerdings wurden höchst unterschiedliche Dosierungen verwendet.

Für die subkutane Anwendung wurde bisher von keinen Bewusstseinstörungen berichtet.

Für den intravenösen Weg wird in der Literatur von unterschiedlichen, teils ausgeprägten, allergischen Reaktionen wie z.B. von einem generalisiertem Exanthem, von Fieber, von Schüttelfrost oder von Niesanfällen berichtet. Hierzu variieren die Daten mit einer Spanne von 20,5 % (Rades et al. 2004) bis 25 % der betroffenen Patienten (Dorr et al., 1999 für Kurzinfusionen). Meist handelt es sich um eine milde, nicht behandlungsbedürftige Verlaufsform. Diesbezüglich stellten wir bei der intravenösen Gruppe keine derartigen Reaktionen fest.

Dagegen besteht das Hauptnebenwirkungsprofil der subkutanen Route aus lokalen, teils systemischen allergischen Reaktionen und Schmerzen bei der Injektion.

Es kam zu einer leichten Rötung des abdominalen Injektionsortes (Grad 1 CTC, 1 x Grad 2 CTC an einem Behandlungstag) bei allen subkutan behandelten Patienten, wobei dies keinen Einfluss auf die Compliance hatte. Zusätzlich berichteten 2 Patienten an vier Behandlungstagen über Schmerzen bei der subkutanen Injektion. All diese Symptome waren aber rückläufig während der weiteren Therapie.

Über Hautreaktionen und Injektionsschmerzen berichteten auch andere Autoren.

Anné et al. (2002 b) stellten bei 54 subkutan behandelten Patienten in 54 % der Fälle eine mit Amifostin assoziierte Hautreaktion fest (darunter 11 % Grad 3 CTC). Dies führte in 13 % der Fälle zu einem Therapieabbruch.

Koukourakis et al. (2000) stellten bei 70 behandelten Patienten in 8,5 % der Fälle eine lokale Rötung (Grad 1 CTC), in 17 % der Fälle Schmerzen bei der Injektion, in 5,7% der Fälle ein generalisiertes Exanthem (mit Therapiepause) fest.

Ein Hauptgrund der allgemeinen Anwendung von Amifostin bei Kopf-Hals-Tumoren liegt in der Prävention vor einer radiotherapeutisch induzierten akuten wie auch späten Xerostomie.

In beiden Gruppen der vorliegenden Studie entwickelten je 2 Patienten eine Grad 2 CTC und eine Grad 3 CTC Xerostomie wobei sich die Grad 3 CTC Xerostomie bei dem subkutanen Patienten im Verlauf der Behandlung zu einem Grad 2 CTC besserte.

Insgesamt ist aber davon auszugehen, dass die Ergebnisse zum Auftreten einer Xerostomie in Studien mit höherer Patientenzahl aussagekräftiger sind. In der Studie von Brizel et al. (2000) an einer intravenös behandelten Gruppe wurde eine akute Xerostomie \geq Grad 2 CTC in 51 % der Fälle ermittelt gegenüber in 78 % der Fälle bei alleiniger Radiotherapie (148 Patienten). Für

die späte, und damit persistierende Xerostomie kam er zu einem Ergebnis von 34 % (Amifostintherapie + Radiotherapie) vs. 57 %. (alleinige Radiotherapie). Im Rahmen einer Studie zur subkutanen Amifostinapplikation ermittelten Anné et al. (2002 b), dass 56 % der Patienten eine akute Xerostomie (\geq Grad 2 CTC) und 45 % eine späte Xerostomie erlitten (insgesamt 54 Patienten).

Es kann somit bei beiden Applikationsformen eine vergleichbare Prävention vor einer Xerostomie festgestellt werden, wobei sich dies sowohl in dieser wie auch in anderen, früheren Studien zeigte.

4.7 Schlussfolgerungen

- I. Bei einer subkutanen Applikation von Amifostin ist eine Bioverfügbarkeit zu 100 % gegeben.
- II. Mit einer subkutanen Applikation kann eine systemisch höhere Bioverfügbarkeit sowohl für den aktiven Metaboliten WR-1065 wie auch für die Dithiole erreicht werden. Zusammen mit einem späteren Konzentrationsmaximum ermöglicht dieses Ergebnis ein größeres Zeitfenster zwischen der subkutanen Applikation und der anschließenden Radiotherapie. Insgesamt führt dies zu einer vereinfachten klinischen Anwendung von Amifostin.
- III. Ein hohes Verteilungsvolumen aller gemessenen pharmakokinetischen Parameter deutet auf ein hohes systemisches Verteilungsvolumen hin.
- IV. Bei der subkutanen Applikation besteht keine Notwendigkeit einer Blutdrucküberwachung.
- V. Mit der subkutanen Applikation wird eine der intravenösen Applikation vergleichbare Prävention vor einer Xerostomie erreicht.

- VI. Es kommt zu einer verringerten Rate von Übelkeit und Erbrechen bei der subkutanen Behandlung. Dies geht allerdings mit einer erhöhten Rate von allergischer Reaktionen einher (v.a. Hautreaktionen).

- VII. Es sind weitere Untersuchungen zu der hohen inter- und intraindividuellen Variabilität der Subkutangruppe erforderlich.

5. Zusammenfassung

Hintergrund:

Amifostin (Ethyol®), ein phosphorylierter Aminoalkohol mit der chemischen Bezeichnung S-2[3-aminopropylamino]-ethyl-thiophosphorsäure, ist eine Substanz mit einem breiten zytoprotektiven Spektrum für die radio- und chemotherapeutisch induzierten Nebenwirkungen. Die Substanz fungiert dabei im Sinne einer Prodrug. Daraus wird, in Abhängigkeit von der alkalischen Phosphatase, der dephosphorylierte aktive Metaboliten WR-1065 gebildet. Dieser ist für die protektiven Wirkungen hauptsächlich verantwortlich. Weitere Oxidationen führen zu den entsprechenden symmetrischen (WR-33278) und gemischten Disulfiden.

Die Zulassung der Substanz ist bisher lediglich auf eine intravenöse Applikation beschränkt. Hier zeigten sich bei radiotherapeutisch behandelten Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren eine signifikante Reduktion einer Xerostomie und eine wesentlich höhere Lebensqualität der betroffenen Patienten.

Präklinische Daten weisen auf eine signifikante Bioverfügbarkeit dieser Substanz auch bei einer subkutanen Applikation hin. In der vorliegenden Arbeit sollten erstmals umfangreiche Daten zur Pharmakokinetik von Amifostin und seiner Metaboliten, dem klinischem Outcome und Verträglichkeit für die subkutane Anwendung, im direkten Vergleich mit einer intravenösen Kontrollgruppe, im gesamten postoperativen Verlauf von Patienten mit HNO-Tumoren erhoben werden.

Material und Methoden:

Die 9 an der Studie teilnehmenden Patienten wurden auf 2 Behandlungsgruppen, bestehend aus einer subkutanen (Gruppe 1 = 5 Patienten) und einer intravenösen Gruppe (Gruppe 2 = 4 Patienten), aufgeteilt. Es handelte sich dabei um postoperativ bestrahlte Patienten mit Tumoren im Kopf-Hals-Bereich (T1 – T4), bei denen keine Metastasen festgestellt wurden und die sich keiner

Chemotherapie unterzogen. Die Dosierung lag bei 500 mg Amifostin absolut (subkutan) bzw. bei 320 – 500 mg Amifostin (intravenös). Die Applikation erfolgte im Zeitraum zwischen 30 – 45 min vor einer fraktionierten Bestrahlung an 5 Tagen pro Woche. Dies wurde entsprechend über den gesamten postoperativen Verlauf (6 – 7 Wochen) durchgeführt. Es wurden Blutproben an 2 – 3 Tagen pro Woche bei jedem der Patienten entnommen. Insgesamt konnten auf diese Weise über 800 Plasmaproben gewonnen (s.c. n = 448, i.v. n = 378) und über 2100 Einzelanalysen ausgewertet werden.

Für die quantitative Bestimmung von Amifostin, des aktiven Metaboliten WR-1065 und der Disulfide wurde eine RP (reversed phase)-HPLC-Methode mit elektrochemischer Detektion verwendet. Die Nachweisgrenze lag bei 10ng/ml für WR-1065. Die Genauigkeit der täglichen Messungen variierte zwischen 5% und 15%; die Präzision lag bei 8%. Das Amifostin wurde durch eine saure Hydrolyse (42° C, 12 h) in seinen aktiven Metaboliten überführt. Die Disulfide wurden durch Reduktion mit Dithiothreitol (20µl 50 mM DTT, 15 min bei Raumtemperatur) zu WR-1065 umgesetzt. Eine Quantifizierung von Amifostin als auch seiner korrespondierenden Disulfide erfolgte nach Umsetzung durch Subtraktion der initial gemessenen WR-1065 Spiegel.

Das Nebenwirkungsprofil wurde nach den CTC-Kriterien erfasst.

Ergebnisse und Schlussfolgerung:

Eine Bioverfügbarkeit von Amifostin in der subkutanen Applikationsroute ist zu 100% gegeben. Folglich ist eine subkutane Behandlung möglich.

Durch die signifikant erhöhte Bioverfügbarkeit des aktiven Metaboliten WR-1065 sowie das spätere Konzentrationsmaximum eröffnet sich ein vergrößertes Zeitfenster und ergibt sich eine verbesserte Praktikabilität der folgenden Radiotherapie. Hinsichtlich des klinischen Wirkungsprofils wird bei der subkutanen Applikation eine der intravenösen Applikation vergleichbare Xerostomieprophylaxe erreicht. Die klinische Verträglichkeit und das geringere Toxizitätsprofil der subkutanen Gruppe ermöglicht eine einfachere und sichere Handhabung der Substanz. Die hohe inter- und intraindividuelle Variationsbreite

der subkutanen pharmakokinetischen Daten und die intrazelluläre Kinetik sollten in einer weiteren randomisierten Phase II-Studie untersucht werden.

6. Literaturverzeichnis

Anné PR, Curran WJ: A phase II trial of subcutaneous amifostine and radiation therapy in patients with head and neck cancer. *Semin Radiat Oncol* 2002 a, Vol. 12 (1 Suppl. 1), p. 18-19.

Anné PR: Phase II trial of subcutaneous amifostine in patients undergoing radiation therapy for head and neck cancer. *Semin Oncol* 2002 b, Vol. 29, No 6, Suppl 19 (December), p. 80–83.

Bardet E, Martin L, Calais G, Tuchsais C, Bourhis J, Rhein B, Feham N, Alphonsi M: Preliminary data of the GORTEC 2000-02 phase III trial comparing intravenous and subcutaneous administration of amifostine for head and neck tumors treated by external radiotherapy. *Semin Oncol*, 2002, Vol. 29 (6 Suppl 19), p. 57-60.

Bensadoun R et al., Chemotherapy- and radiotherapy-induced mucositis in head and neck cancer patients: new trends in pathophysiology, prevention and treatment. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2001. Vol. 258: p. 481-487.

Boccia R: Improves Tolerability of Amifostine With Rapid Infusion and ptimal Patient Preparation. *Semin Oncol*, 2002, Vol. 29, No 6, Suppl 19 (December), p. 9-13.

Bonner HS, Shaw LM: Measurement of both protein-bound and total S-2-(3-aminopropylamino)ethanethiol (WR-1065) in blood by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2000, 739, p. 357-362.

Bonner HS, Shaw LM: New dosing regimes for amifostine: a pilot study to compare the relative bioavailability of oral and subcutaneous administration with intravenous infusion. *J clin pharmacol*, 2002, Vol. 42(2), p. 166-174.

Bourhis J, De Crevoisier R, Abdulkarim B et al.: A randomized study of very accelerated radiotherapy with and without amifostine in head and neck squamous cell cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; Vol. 46(5) p. 1105-1108.

Brizel DM, Wasserman TH, Henke M, Strnad V, Rudat V, Monnier A, Eschwege F, Zhang J, Russell L, Oster W, Sauer R: Phase III randomized trial of

- amifostine as a radioprotector in head and neck cancer. *J Clin Oncol*, 2000, Vol. 18, No 19 (October 1), p. 3339-3345.
- Buntzel J, Kuttner K, Fröhlich D, et al.: Selective cytoprotection with amifostine in concurrent radiochemotherapy for head and neck cancer. *Ann Oncol* 1998, Vol. 9, p. 505–509.
- Calabro-Jones PM, Fahey RC, Smoluk GD et al.: Alkaline phosphatase promotes radioprotection and accumulation of WR-1065 in V79-171 cells incubated in medium containing WR-2721. *Int J Radiat Biol* 1985, 47: p. 23-27.
- Calabro-Jones PM, Aguilera JA, Ward JF et al.: Uptake of WR-2721 derivatives by cells in culture: Identification of the transported form of the drug. *Cancer Res* 1988, 48: 3634–3640.
- Capizzi RL: Protection of normal tissues from the cytotoxic effects of chemotherapy by amifostine (Ethyol): Clinical experiences. *Semin Oncol* 1994, 21 (suppl. 11): 8-15.
- Capizzi RL: Amifostine: The Preclinical Basis for Broad-Spectrum Selective Cytoprotection of Normal Tissues From Cytotoxic Therapies. *Semin Oncol* 1996, Vol. 23, No 4, Suppl. 8 (August), p. 2-17.
- Capizzi RL: Clinical Status and Optimal Use of Amifostine, *Oncology* 1999 a, Vol. 13, No 1; p. 47-59.
- Capizzi RL: The preclinical basis for broad-spectrum selective cytoprotection of normal tissues from cytotoxic therapies by amifostine. *Semin. Oncol* 1999 b, Apr; 26 Suppl. 7: p. 3-21.
- Cassat DR, Fazenbaker CA, Kiffle G, Bachy CM: Preclinical Studies on the Radioprotective Efficacy and Pharmacokinetics of Subcutaneously Administered Amifostine. *Semin Oncol*, 2002, Vol. 29, No. 6, Suppl 19 (December), p. 2-8.
- Cassat DR, Fazenbaker CA, Kifle G et al.: Subcutaneous administration of amifostine (Ethyol) is equivalent to intravenous administration in a rat mucositis model. *Int J Radiat Oncol Boil Phys* 2003 a, Vol. 57, p. 794-802.
- Cassat DR, Fazenbaker CA, Kiffle G, Bachy CM: Effects of Dose and Schedule on the Efficacy of Ethyol: Preclinical Studies. *Semin Oncol*, 2003 b, Vol. 30, No. 6, Suppl. 18 (December), p. 31-39.
- Chen A, Myers J: Cancer of the Oral Cavity. *Curr Probl Surg*, 2000. 37(10): p. 635-731.

- Clark JR, Frei IE: Chemotherapy for head and neck cancer: progress and controversy in the management of patients with M0 disease. *Semin Oncol* 1988, 4: p. 44 - 47.
- Culy CR, Spencer CM: Amifostine: an update on its clinical status as a cytoprotectant in patients with cancer receiving chemotherapy or radiotherapy and its potential therapeutic application in myelodysplastic syndrome. *Drugs* 2001, Vo. 61(5): p. 641-684.
- Davidson DE, Grenan MM, Sweeney TR: Biological characteristics of some improved radioprotectors, in Brady LW (ed): *Radiation Sensitizers, Their use in the Clinical Management of Cancer*, New York, NY, Masson, 1980, p. 309–320.
- Davis R: Photodynamic therapy in head and neck cancers. *Lasers in otorhinolaryngology and in head and neck surgery. Adv Otorhinolaryngol*, 1995, Vol. 49, p. 58-62.
- Delank KW: *Die Tumoren in der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde 1995*, *Ther Umschau* 52: S. 768-773.
- DeNeve WJ, Everett CK, Suminski JE et al.: Influence of WR2721 on DNA cross-linking by nitrogen mustard in normal mouse bone marrow and leukaemia cells in vivo. *Cancer Res* 1988 Nov 1, 48: p. 6002-6005.
- Derivi E, Bartel A, Goldsher M, Eliachar I, Steinitz R, Robinson E: Occurrence of additional primary neoplasms in patients with laryngeal carcinoma in Israel (1960 – 1976). *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1982, 91: p. 261-265.
- Dorr RT, Holmes BC: Dosing considerations with amifostine: a review of the literature and clinical experience. *Semin Oncol*, 1999, Vol. 26 (2, Suppl. 7), p. 108-199.
- Fietkau R, Sauer R: Möglichkeiten und Grenzen der Radiotherapie des Larynxkarzinoms. *Strahlenther Onkol* 1992, 168: S. 1-16.
- Forastiere A et al.: Final report of a phase II evaluation of paclitaxel in patients with advanced squamous cell carcinoma of the head and neck cancer. *Cancer*, 1998. 82: p. 2270-2274.
- Forastiere A: Overview of platinum chemotherapy in head and neck cancer. *Semin Oncol*, 1994. 21: p. 20-27.
- Ganly I, Kaye S: Recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck: overview of current therapy and future prospects. *Ann Oncol*, 2000 (a). 11(1): p.11-16.

- Ganly I, Soutar D, Kaye S: Current role of gene therapy in head and neck cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2000 (b). 26(4): p. 338-343.
- Glover D, Riley L, Carmichael K et al.: Hypocalcemia and inhibition of parathyroid hormone secretion after administration of WR-2721 (a radioprotective and chemoprotective agent). *N Engl J Med* 1983 Nov 10; 309: p. 1137-1141.
- Glover DJ, Fox KR, Weiler C et al.: Clinical trials of WR-2721 prior to alkylating agent chemotherapy and radiotherapy. *Pharmac Ther* 1988, 39: p. 3-7.
- Grdina DJ, Kataoka Y, Murley JS: Amifostine: Mechanisms of action underlying cytoprotection and chemoprevention. *Drug Metabol Drug Interact* 2000, Vol. 16, p. 237-279.
- Guus AMS, Van Dongen G, Snow G: Prospects for future studies in head and neck cancer. *Eur J Surg Oncol*, 1997, Vol. 23(6), p. 486-491.
- Haddad R, Wirth L, Costello R, Weeks L, Posner M: Phase II randomized study of concomitant chemoradiation using weekly carboplatin/paclitaxel with or without daily subcutaneous amifostine in patients with newly diagnosed locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Semin Oncol*, 2003, Vol. 30 (6 Suppl 18), p. 84-88.
- Hartmann J, Lipp HP, Bokemeyer C: Amifostin (Ethyol) in: C Bokemeyer, HP Lipp (Eds.): *Praktische Aspekte der supportiven Therapie in Hämatologie und Onkologie*. Berlin, Springer, 1998: S. 114-116
- Hausen zur H: The role of viruses in human tumours. *Adv Cancer Res*, 1980, 33: p. 77.
- Hoffmann J, Reinert S: Das Plattenepithelkarzinom im Kiefer- und Gesichtsbereich. *Zahnärzteblatt Baden-Württemberg* 4/2002: S. 16-20.
- Jacobs C, Lyman G, Velez-Garcia E: A phase III randomized study comparing cisplatin and fluorouracil as single agents and in combination for advanced squamous cell carcinoma of the head and neck cancer. *J Clin Oncol*, 1992, 10: p. 257-263.
- Korst AEC, Gall HE, Vermorken JB, van der Vijgh WJF: Pharmacokinetics of amifostine and its metabolites in the plasma and ascites of cancer patients. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 1996, Vol. 39 (1/2), p. 162-166.
- Korst AEC, Eeltink CM, Vermorken JB, van der Vijgh WJF: Pharmacokinetics of Amifostine and its Metabolites in Patients. *Eur J Cancer* 1997, Vol. 33, No. 9, p. 1425-1429.

- Koukourakis MI, Kyrias G, Kakolyris S et al.: Subcutaneous administration of amifostine during fractionated radiotherapy: a randomised phase II study. *J Clin Oncol* 2000, 18 (11): p. 2226-2233.
- Koukourakis MI: Amifostine: Is there evidence of tumor protection? *Semin Oncol.* 2003, Vol. 30 (6 Suppl 18), p. 18-30.
- Laak E, Hossfeld D: Stellenwert der Chemotherapie in der Behandlung des Mundhöhlenkarzinoms, Mundhöhlen-Oropharynxkarzinoms. Prognose und Radikalität. Osnabrück 1998.
- Lamont E, Vokes E: Chemotherapy in the management of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Lancet*, 2001. 2: p. 261-269.
- Laramore G, Scott C, Al-Sarraf M: Adjuvant chemotherapy for resectable squamous cell carcinomas of the head and neck: Report on intergroup study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1992. 23: p. 705-713.
- Maier H, Sennewald E: Risikofaktoren für Plattenepithelkarzinome im Kopf-Hals Bereich: Ergebnisse der Heidelberger Fallkontrollstudien. Hauptverband der gewerbl. Berufsgenoss. (HVBG), Sankt Augustin 1994.
- Merino OR, Lindberg RD, Fletcher GH: An analysis of distant metastases from squamous cell carcinoma of the upper respiratory and digestive tracts. *Cancer* 1977, 40: p. 145-151.
- Metelmann H: Tumoren im Kopf-Hals-Bereich in: *Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie II*, H. Horch, Editor. 1998, Urban & Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore. S. 251-328.
- Mitromaras A et al.: The safety of subcutaneous administration of amifostine during chemotherapy. 11. *Int Cong Anti-Cancer Treatment*, Paris, France, Feb., 6.-9.2001, p. 269.
- Myers L, Wax M: Positron emission tomography in the evaluation of the negative neck in patients with oral cavity cancer. *J Otolaryngol*, 1998. 27: p. 342-347.
- Ogura H. et al.: Human papillomavirus as a risk factor of head and neck cancers – a case control study. *Acta Oto-Laryngologica*, 1999. 119(4): p.77-80.
- Rades D, Fehlaue F, Bajrovic A, Mahlmann B, Richter E, Alberti W: Serious adverse effects of amifostine during radiotherapy in head and neck cancer patients. *Radiotherapy and Oncology* 2004, Vol. 70, p. 261-264.
- Reichart P et al.: Früherkennung von Neubildungen im Kiefer-Gesichtsbereich durch den praktizierenden Zahnarzt, 1991, Deutsche Krebshilfe e.V., Bonn.

- Samuels MA, Chico IM, Hirsch RL, Fullmer K: Ongoing prospective multicenter safety study of the cytoprotectant amifostine given subcutaneously: overview of a trial design. *Semin Oncol*, 2003, Vol. 30 (6 Suppl. 18), p: 94-95.
- Sankaranarayanan R et al.: Head and Neck Cancer: A Global Perspective on Epidemiology and Prognosis. *Anticancer Res*, 1998. 18 (6B): p. 4779-4786.
- Schlesinger-Raab A, Lang S, Steuer-Vogt MK, Hölzel D: Zur Epidemiologie der Kopf-Hals-Malignome. *Manual Kopf-Hals-Malignome 2003*, Tumorzentrum München und W. Zuckerschweidt Verlag München.
- Schönekas KG, Wagner W, Prott FJ: Amifostine: a radioprotector in locally advanced head and neck tumors. *Strahlenther Onkol* 1999 Nov; 175 Suppl. 4: p. 27-29.
- Seegenschmiedt MH, Sauer H, Müller RP: Interdisziplinäre Dokumentation von akuten Nebenwirkungen in der Onkologie: Common Toxicity Criteria (CTC). *Forum DKG* 1998 a, 13: S. 178–188.
- Seegenschmiedt MH, Paulus U, Müller RP et al.: Bewertung von langfristigen Therapiefolgen: Studienkonzeption der Deutschen Hodgkin Lymphom Studiengruppe. *Forum DKG* 1998 b, 13: S. 191-200.
- Shaw LM, Bonner H, Turrisi A, Norfleet AL, Glover DJ: A liquid chromatographic electrochemical assay for S-2-(3-aminopropylamino)ethylphosphorothioate (WR2721) in human plasma. *J Liq Chromatography* ,1984, 1, p. 2447-2465.
- Shaw LM, Bonner HS, Turrisi A, Norfleet AL, Kligermann M: Measurement of S-2-(3-aminopropylamino)ethanethiol (WR-1065) in blood and tissues. *J Liquid Chromatogr* 1986 a, Vol. 9 (4), p. 845-859.
- Shaw LM, Glover D, Turrisi AT et al.: Human pharmacokinetics of WR-2721. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1986 b Aug; 12: p. 1501-1504.
- Shaw LM, Glover D, Turrisi A et al.: Pharmacokinetics of WR-2721. *Pharmacol Ther* 1988; 39: p. 195-201.
- Shaw LM, Bonner HS, Brown DQ: Metabolic pathways of WR-2721 (ethylol, amifostine) in Balb/c mouse. *Drug Metab Disposition* 1994 a. Vol. 22 (6), p. 895–902.
- Shaw LM, Bonner HS, Nakashima H, Liebermann R: Pharmacokinetics of amifostine in cancer patients: evidence for saturable metabolism. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1994 b, Vol. 13, p. 144.
- Shaw LM, Bonner HS, Liebermann R: Pharmacokinetic Profile of Amifostine. *Semin Oncol*, 1996, Vol. 23, No. 4, Suppl. 8, p. 18–22.

- Shaw L, Brown W, Schein P, Stogniew M: A phase I study comparing the relative bioavailability of intravenous and subcutaneous administration of amifostine (Ethyol). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1997 a, 16: p. 883.
- Shaw LM, Bonner HS, Schuchter L, Schiller JH, Nakashima H, Liebermann R: Amifostine pharmacokinetics in cancer patients: development of a population model. *Ther Drug Monit* 1997 b; Vol. 19 (5), p. 600.
- Shaw LM, Bonner HS, Schuchter L, Schiller J, Liebermann R: Pharmacokinetics of Amifostine: Effects of Dose and Method of Administration, *Semin Oncol* 1999, Vol. 26, No. 2, Suppl. 7 (April), p. 34-36.
- Siegenthaler W, Kaufmann W, Hornbostel, Waller HD (Hrsg.): *Lehrbuch der inneren Medizin*, 2. Auflage 1987, Thieme, Stuttgart-New York.
- Spencer CM, Goa KL: Amifostine - a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential as a radioprotector and cytotoxic chemoprotector. *Drugs* 1995, 50: p. 1001–1031.
- Spitz MR: Epidemiology and risk factors for head and neck cancer. *Semin Oncol* 1994, 21: p. 281-288.
- Smoluk GD, Fahey RC, Calabro-Jones PM et al.: Radioprotection of cells in culture by WR-2721 and derivatives: Form of the drug responsible for protection. *Cancer Res* 1988, 48: p. 3641–3647.
- Stenbeck M, Rosen M, Holm LE: Cancer survival in Sweden during three decades, 1961 – 1991. *Acta Oncol* 1995, 34: p. 888-891.
- Stupp R, Weichselbaum R, Vokes E: Combined modality therapy of head and neck cancer. *Semin Oncol*, 1994, 21: p. 349-358.
- Stupp R, Vokes EE: Fortschritte in der Therapie von Kopf- und Halstumoren. 1. Teil: Chemotherapie. *Strahlenther Onkol* 1995, 171: S. 12-17.
- Thorstad WL, Haughey B, Chaos KS: Pilot study of subcutaneous amifostine in patients undergoing postoperative intensity modulated radiation therapy for head and neck cancer: preliminary data. *Semin Oncol*, 2003, Vol. 30 (6 Suppl 18), p. 96-100.
- Treskes M, Nijtmans LG, Fichtinger AMJ, Schepman C et al.: Effects of the modulating agent WR2721 and its main metabolites on the formation and stability of cisplatin-DNA adducts in vitro in comparison to the effects of thiosulphate and diethyldithiocarbamate. *Biochem Pharmacol* 1992, 43: p. 1013-1019.
- Treskes M, van der Vigh WJF: WR2721 as a modulator of cisplatin- and carboplatin-induced side effects in comparison with other chemoprotective

- agents: a molecular approach. *Cancer Chemother Pharmacol* 1993 Nov; 33: p. 93-106.
- UICC (1985), *TNM-Atlas: Illustrierter Leitfaden zur TNM/pTNM Klassifikation maligner Tumoren*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- University of Pennsylvania Medical Center, Philadelphia PA: A phase I study comparing the relative bioavailability of intravenous (IV) and subcutaneous (SC) administration of amifostine (Ethyol), Meeting abstract, 1997, *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol.*, Vol. 16, p. A 883.
- Wadler S, Haynes H, Beitler JJ et al.: Management of hypocalcemic effects of WR2721 administered on a daily times five schedule with cisplatin and radiation therapy. *J Clin Oncol* 1993, Aug., Vol. 11, p. 1517-22.
- Waldfahrer F, Maldea L, Altendorf-Hofmann A, Iro H: Evaluation of the "new" TNM classification of head and neck tumors in 3247 patients; Evaluierung der neuen TNM-Stadieneinteilung für Kopf-Hals-Tumoren anhand von 3247 Patienten. *HNO - Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Kopf- und Hals-Chirurgie*, Vol. 47 (11), 1999 Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, S. 957-962.
- Wassermann T, Mackowiak JI, Brizel DM, Oster W, Zhang J, Peeples PJ, Sauer R: Effect of amifostine on patient assessed clinical benefit in irradiated head and neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000, Vol. 48, No. 4, p. 1035-1039.
- Wennerberg J: Predicting response to therapy of squamous cell carcinoma of the head and neck (review). *Anticancer Res*, 1996. 16: p. 2389-2396.
- Wessels B, Harisiadis L, Carabell S: Dosimetry and radiobiological efficacy of clinical radioimmunotherapy. *J Nucl Med*, 1989, Vol. 30, p. 827.
- Van der Vijgh WJF, Kort AEC: Amifostine(Ethyol): Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Effects In Vivo. *Eur J of Cancer*, 1996, Vol. 32 A, Suppl. 4, p. 26-30.
- Vermoken J et al.: Randomized phase II trial of methotrexate versus two schedules of paclitaxel in patients with recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *Proc Am Soc Clin Oncol*, 1998. 17: p. 1508.
- Vokes EE: Head and neck cancer in: MC Perry (Ed.): *The chemotherapy source book*. Baltimore 1992, p. 918-931.
- Vokes EE, Weichselbaum RR, Lippman S et al.: Head and neck cancer. *New Engl J Med* 1993, 328: p. 184-194.
- Vokes EE, Athanasiadis I: Chemotherapy for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *Ann Oncol*, 1996. 7: p. 15-29.

Yang JL, Fernandes DJ, Speicher L et al.: Biochemical determinants of the cytoprotective effect of amifostine. Proc Am Assoc Cancer Res 1995, 36: Abstr. 1725.

7. Danksagung

An dieser Stelle möchte mich bei folgenden Personen für ihre Unterstützung und ihre hervorragende Zusammenarbeit, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, herzlich bedanken:

Meinem Betreuer und Doktorvater Herrn PD Dr. med. L. Plasswilm gilt mein ganz besonderer Dank für die Überlassung des Themas. In einzigartiger kollegialer und freundschaftlicher Weise unterstützte und motivierte er mich. Diese optimale Betreuung weckte mein wissenschaftliches Interesse in besonderem Maße.

Herrn Dr. R. A. Hilger und seinem Laborteam aus dem Universitätsklinikum Essen für die freundliche Aufnahme und Einführung in die faszinierenden Möglichkeiten der HPLC-Methode und für die Analyse der umfangreichen Probenserien sowie für die hervorragende und stetige Beratung.

Den Patienten, die an dieser Studie teilnahmen. Für die enorme Geduld und Zeit, die sie aufgrund der hohen Probenanzahl mitbrachten und das überaus freundliche und unterstützende Verhältnis. Ihnen verdanke ich viele wertvolle Hinweise und Erfahrungen im Umgang mit den leidvollen Beeinträchtigungen bei HNO-Tumoren.

Herrn Prof. Dr. M. Bamberg für die sehr freundliche Aufnahme in seine Abteilung und die weit über diese Arbeit hinausgehende Unterstützung.

Dem Laborteam der radioonkologischen Abteilung und dem Pflegeteam der Tagesklinik für das absolut angenehme, freundschaftliche und unterstützende Klima.

Meinen liebevollen Dank an meine Eltern, Renate und Werner Wilder, für die maximale Unterstützung während des Studiums und während dieser Arbeit.

Ohne ihr andauerndes und optimales Vertrauen wäre sehr vieles nicht möglich gewesen.

Meinen Freunden für die stetige Diskussionsbereitschaft und die vielen Denkanstöße und meiner lieben Freundin Aline für das maximale Verständnis und Unterstützung während des Abfassens dieser Arbeit.

8. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Daniel Werner Wilder
Geburtsdatum: 01.12.1974
Geburtsort: Regensburg
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig

Schul- und Universitätsausbildung

06/1994 Abitur am Gymnasium Neutraubling, Regensburg
10/1996 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg
09/1998 Physikum (ärztliche Vorprüfung)
05/1999 Studienortswechsel an die Eberhard-Karls-Universität Tübingen
09/1999 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
03/2002 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
04/2002-03/2003 PJ:
1. Teil Chirurgie an der Université de Montpellier/Frankreich
2. Teil Innere Medizin am Kantonsspital Basel/Schweiz
3. Teil Dermatologie am Universitätsklinikum Tübingen

05/2003

Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung (27.05.2003)

Promotion

01/2000

Beginn meiner Promotion in der Abteilung Radioonkologie mit Poliklinik an dem Universitätsklinikum Tübingen in Zusammenarbeit mit der Universität Essen (Dr. R.A. Hilger/Prof. Dr. M. Scheulen) unter der Leitung von PD Dr. L. Plasswilm/Prof. Dr. M. Bamberg: (Thema: Amifostin in subkutaner Anwendung bei HNO-Tumoren)

Publikationen

Plasswilm L., Wilder D., Glocker S., Bamberg M., Scheulen M., Hilger R., Seeber S. Untersuchungen zur Pharmakokinetik der subcutanen Applikation von Amifostin während Radiotherapie bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumor. Strahlenther. Onkol. 177 (Sondernr. 1): 65 Abstrakt V29.8 (2001)

Plasswilm L., Wilder D., Scheulen M., Glocker S., Bamberg M., Seeber S., Hilger R.
Pharmakokinetics of amifostine after subcutaneous administration in head and neck cancer patient during postoperative radiotherapy.
EJC 37 (Supplement 6), 67 abstract 238 (2001)

Plasswilm L., Wilder D., Scheulen M., Glocker S., Bamberg M., Seeber S., Hilger R.
Pharmakokinetics of amifostine WR-1065 and the disulfides metabolites: subcutaneous vs. intravenous administration.
Onkologie 25, 593 abstract (2002)

Famulaturen

- 09/2002 Famulatur in der Abteilung Innere Medizin St. Josef Krankenhaus/Regensburg
- 02/2000-03/2000 Famulatur in der radioonkologischen Tagesklinik am Universitätsklinikum Tübingen
- 08/2001-10/2001 Famulatur auf der Station für Strahlentherapie am Universitätsklinikum Tübingen

Berufserfahrung

- 07/1994-10/1995 Zivildienst als mobiler sozialer Hilfsdienst bei der Kirchengemeinde Keitum/Sylt
- 11/1995-03/1996 Krankenpflegepraktikum am Krankenhaus in Gauting/München
- 04/1996-08/1996 Ferientätigkeit auf Sylt
- 06/1999-09/2003 nächtliche Stationsbetreuung am Universitätsklinikum Tübingen in der Abteilung der Radioonkologie
- 03/2001 Tätigkeit als Promoter auf der CeBIT für Olympus Optical Co. (Europa) GmbH
- seit 10/2003 Arzt im Praktikum im Roten Kreuz Krankenhaus Kassel (Akademisches Lehrkrankenhaus der Phillips-Universität Marburg)

Auslandserfahrung

- | | |
|-----------------|---|
| 04/1992-07/1992 | Schüleraustausch mit einer Partnerschule in Aurec/Frankreich |
| 10/1998 | 4 wöchiger Feriensprachkurs in Dallas/Texas |
| 04/2002-08/2002 | Studium (PJ Chirurgie) an der Université de Montpellier/Frankreich
Chirurgie am Hôpital St. Eloi |
| 08/2002-12/2002 | Studium (PJ Innere Medizin) an der Universität Basel/Schweiz
Innere Medizin Kantonsspital Basel |