

Aus der Medizinischen Klinik I
der Universität Lübeck
kommissarischer Direktor Prof. Dr. med. T. Wagner

Einfluss einer begleitenden Dexamethason-Medikation
auf die metabolische Aktivierung
und Pharmakokinetik von
Ifosfamid und Cyclophosphamid

Eine Pharmakokinetische Begleitstudie

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
der Universität Lübeck
-aus der medizinischen Fakultät-

vorgelegt 2007 von
Sonja Heike Pfäffle
aus Leonberg

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Thomas Wagner

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Dominique Finas

Tag der mündlichen Prüfung: 15.05.2008

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 15.05.2008

gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach
- Dekan der Medizinischen Fakultät -

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Verzeichnis der Abkürzungen	4
II. Einleitung	5
III. Patienten, Material und Methoden	12
1. Patienten	12
a) Patienten und Dosierungen des Ifosfamidstudienteils	13
b) Pharmakokinetik des Ifosfamidstudienteils	14
c) Patienten und Dosierungen des Cyclophosphamidstudienteils	14
d) Pharmakokinetik des Cyclophosphamidstudienteils	15
2. Methoden	16
a) Ifosfamid-Messung	16
b) 4-Hydroxy-Ifosfamid-Messung	17
c) Chloracetaldehyd-Messung	18
d) Cyclophosphamid-Messung	19
e) 4-Hydroxy-Ifosfamid-Messung	19
3. Biometrie	19
IV. Ergebnisse	20
1. Plasmaspiegel der Patienten des Ifosfamidstudienteils	20
2. Pharmakokinetische Parameter von Ifosfamid, 4-Hydroxy-Ifosfamid und Chloracetaldehyd	22
3. Plasmaspiegel der Patienten des Cyclophosphamid-	

studienteils	23
a) Plasmaspiegel von Chloracetaldehyd	24
4. Pharmakokinetische Parameter von Cyclophosphamid, 4-Hydroxy-Cyclophosphamid	25
V. Diskussion	26
VI. Zusammenfassung	33
VII. Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen	35
VIII. Anhang	36
1. Metabolismus von Ifosfamid	36
2. Indikationen für das ICE- Protokoll	37
3. Grundlagen der Hochdosischemotherapie mit anschlie- bender Blutstammzelltransplantation	37
XI. Literaturverzeichnis	38
X. Danksagung	53
XI. Lebenslauf	54

I. VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

AML	Akute myeloische Leukämie
4-OH-CP	4-Hydroxy-Cyclophosphamid
4-OH-IFO	4-Hydroxy-Ifosfamid
AUC	„area under the curve“ oder Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (Plasmaspiegelkurve)
CAA	Chloracetaldehyd
CLL	Chronisch lymphatische Leukämie
CP	Cyclophosphamid
CUP	Cancer of unknown primary, histologisch nachgewiesener maligner Tumor, dessen Ursprung auch mittels gezielter Diagnostik nicht gefunden werden kann
DEX	Dexamethason
ECD	electron capture detector
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG Performance Scale)
FAB	Klassifikation akuter myeloischer Leukämien, entsprechend einer 1985 von der „French-American-British Cooperative Group“ erarbeiteten Einteilung, die insbesondere auf morphologischen und zytochemischen Charakteristika beruht
HPLC	High Performance Liquid Chromatography oder Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatografie
IFO	Ifosfamid
PBSCT	periphere Blutstammzelltransplantation

II. EINLEITUNG

Die beiden Oxazaphosphorin-Zytostatika Ifosfamid und Cyclophosphamid werden in der kurativen und palliativen Therapie maligner hämatologischer Systemerkrankungen, aber auch disseminierter oder inoperabler solider Tumoren häufig eingesetzt. Sie sind Bestandteil verschiedener Kombinationschemotherapien. Ifosfamid (IFO) ist zugelassen für die Therapie von Weichteil- und Osteosarkomen (Kasper B et al., 2006; Fiegl M et al., 2004; Wiedemann GJ et al., 1994), malignen Lymphomen -Morbus Hodgkin und Non-Hodgkin-Lymphome- (Simpson L et al., 2007; Hertzberg MS, 2006; Glass A et al., 2006; Hauke RJ und Armitage JO, 2000) sowie für die Therapie zahlreicher solider Tumoren, wie Bronchial- (Kerbusch T et al., 2001; Wolff AC et al., 1995), Mamma- (Boddy AV et al., 1995), Cervix- (Downs LS Jr et al., 2004), Ovarial- (Peethambaram PP, 2002) und Hodentumoren (Motzer RJ et al., 2000; Harstrick A et al., 1991). Cyclophosphamid (CP) kommt zusätzlich bei der Therapie akuter und chronischer Leukämien, oft als Hochdosistherapie (Colvin OM, 1999; Teicher BA, 1997) mit nachfolgender Knochenmark- oder Stammzelltransplantation zum Einsatz. Es handelt sich um strukturelle Analoga (siehe Abb.1), die sich lediglich durch die Verschiebung einer der beiden Chlorethylgruppen vom exozyklischen Stickstoff zum Stickstoff des Oxazaphosphorinringes unterscheiden (Boddy AV und Yule SM, 2000; Wagner T, 1994).

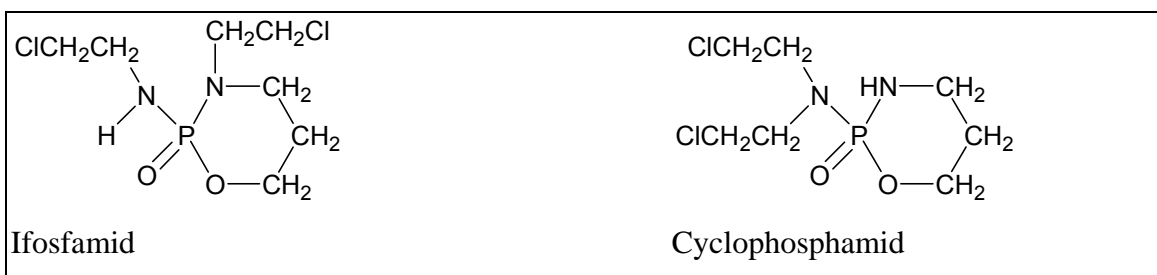


Abb. 1: Strukturformeln von IFO und CP

Beide stellen inaktive „Prodrugs“ dar. Darunter versteht man Substanzen, die selbst inaktiv sind und im Organismus in eine aktive Form umgewandelt werden. IFO und CP bedürfen der metabolischen Aktivierung durch Isoenzyme des Cytochrom P450 im endoplasmatischen Retikulum der Leber (Patterson LH et al., 2002), bevor sie ihre zytotoxische Wirkung ausüben können (Farlanut M und Franceschi L, 2003; Preiss R et al., 2002; Kerbusch T et al., 2001; Granvil GP et al., 1999; Chang TK et al., 1997; Wagner, T., 1994; Sladek NE, 1988). CP wird hauptsächlich durch CYP 2B6 aktiviert (Xie HJ et al., 2003; Boddy AV und Yule SM, 2000; Yu L und Waxman DJ, 1996). Durch Hydroxylierung am C4-Atom seines Rings entsteht der primär aktive Metabolit dieses Zytostatikums, das 4-Hydroxy-Cyclophosphamid (4-OH-CP). Dieser stellt eine Transportform dar, wie auch sein ringoffenes Tautomer Aldophosphamid. Er zerfällt erst bei der Giftung durch β -Elimination spontan in Acrolein und die eigentlich alkylierende Substanz, das N-Lost-Phosphorsäureamid (Farlanut M und Franceschi L, 2003; Preiss R et al., 2002; Kaijser GP et al. 1994; Sladek NE, 1988). Bei IFO wird durch die N-Chlorethylseitenkette am Ring die Bindung an CYP 2B6 sterisch behindert, so dass ein anderes Isoenzym, nämlich CYP 3A4, die Bioaktivierung übernimmt (Yu LJ und Waxman DJ, 1999; Chang TK et al., 1993). Neben der 4-Hydroxylierung und der Freisetzung des aktiven Metaboliten 4-Hydroxy-Ifosamid (4-OH-IFO) wird noch ein zweiter kompetitiver Metabolisierungsweg durch CYP 3A4 katalysiert (Huang Z et al., 2000; Walker D et al., 1994): Durch Seitenkettenoxidation am zyklischen und extrazyklischen N-Atom entstehen 2- und 3-Dechloräthyl-Ifosamid, wodurch gleichzeitig Choracetaldehyd (CAA) freigesetzt wird. Über 25-50% von IFO werden auf diesem Wege aktiviert (Kurowski V und Wagner T, 1997; Misiura K et al., 1983). Im Gegensatz dazu ist bei CP die CAA-Freisetzung verschwindend gering oder nicht nachweisbar (Skinner R et al., 1993; Lind

M et al., 1989). Bei einigen Spezies, z.B. der Ratte, finden wir hingegen auch bei CP eine etwas stärkere Ausprägung dieses zweiten Metabolisierungsweges mit Freisetzung von CAA (Yu LJ et al., 1999). Ob beim Menschen im Hochdosisbereich von CP oder durch Enzyminduzierung von CYP 3A4 nicht doch größere Mengen CAA gebildet werden, wurde bislang nicht untersucht.

Während den 4-Hydroxymetaboliten 4-OH-CP und 4-OH-IFO die eigentliche zytotoxische Aktivität dieser alkylierenden Zytostatika zugeschrieben wird, soll das überwiegend beim IFO gebildete CAA dessen spezifisches Nebenwirkungsprofil (Nephro- und Neurotoxizität) vermitteln. Dosislimitierend wirkt bis heute neben der Knochenmarksdepression die Nephrotoxizität, die sich in glomerululärer und tubulärer Schädigung äußert (Aleksa K et al., 2005; Aleksa K et al., 2004). Es wird von einer vollständig reversiblen Erhöhung der Urinproteinausscheidung (Skinner R et al, 1993) bis hin zu einem dem Fanconi-Syndrom (Moncrieff M et al, 1989) ähnlichen Bild mit terminaler Niereninsuffizienz und Dialysepflichtigkeit berichtet (Berns JS et al, 1995; English MW et al, 1997). Gefährdet sind vor allem Kinder (meist nach mehreren Zyklen mit kurativer Zielsetzung), sowie Patienten, die mit Platinderivaten oder anderen nephrotoxisch wirkenden Substanzen vorbehandelt wurden bzw. eine vorbestehende Nierenschädigung aufweisen (Rossi R et al., 1994). Die für CP sehr charakteristische Urotoxizität in Form einer hämorrhagischen Zystitis kann durch den Einsatz von Mesna und mittels forcierter Diurese (Brock N und Pohl J, 1983) weitestgehend verhindert werden. Die Neurotoxizität manifestiert sich in der Beeinträchtigung mentaler und motorischer Funktionen bis hin zu Krampfanfällen, Somnolenz und Koma (Rieger et al., 2004; Nicolao P und Giometto B, 2003; DiMaggio JR et al., 1997; Lewis LD und Meanwell CA, 1990; Goren CP et al., 1986).

Therapeutisch kann Methylenblau eingesetzt werden (Park IS et al., 2005; Küpfer A et al., 1990).

Beide Metabolisierungswege (in der Literatur häufig auch als Aktivierung und Deaktivierung bezeichnet) stehen im Gleichgewicht, so würde eine vermehrte CAA-Bildung, die gleichzeitig mit einer verminderten Bildung von 4-OH-IFO einhergeht, zu höheren Nebenwirkungen bei verminderter zytotoxischer Wirksamkeit führen. Allerdings stellen Ergebnisse unserer Lübecker Arbeitsgruppe dies in Frage. Es konnte eine eigenständige zytotoxische Aktivität von CAA *in vitro* gegen menschliche, solide Tumorzellen (Brüggemann SK et al., 1997) und gegen hämatologische Zelllinien (Brüggemann Sk et al., 2002) nachgewiesen werden. Börner et al. bestätigten dies in klinisch relevanten Konzentrationen *in vivo* an menschlichen Tumorxenocraften tragenden Nacktmäusen (Börner K et al., 2000). Als Erklärung hierfür könnte dienen, dass CAA eine Rolle bei der Hemmung der DNA-Synthese spielt, indem es eigenständig DNA-Strangbrüche induziert (Brüggemann SK et al., 2006). Die Beteiligung von CAA an der antitumoralen Wirkung von IFO wird allerdings nicht allgemein anerkannt (Chen CS et al., 2004; Yu LJ et al., 1999; Brain EG et al., 1998).

Da die verschiedenen Cytochrom P450 Isoenzyme durch eine Reihe von Medikamenten induziert oder gehemmt werden können (Baker SD et al., 2004; Yu LJ et al., 1999; Guengerich FP, 1997; Kvisto KT et al., 1995), unterliegt die Metabolisierung der Oxazaphosphorin-Zytostatika verschiedenen Arzneimittelinteraktionen. Hierdurch können sich erhebliche quantitative Änderungen der Pharmakokinetik (Spitzenspiegel der Metaboliten, AUC) und somit auch der therapeutischen Effizienz und des Nebenwirkungsspektrums ergeben. Beispielsweise ist seit langem bekannt, dass

Phenobarbital die metabolische Aktivierung von CP induziert (Jao JY et al., 1972). Der Grapefruitbitterstoff Naringenin ist dagegen ein starker Inhibitor von CYP 3A4 (Lipp HP und Schuler U, 1995; Fuhr K et al., 1993), so dass Grapefruitgenuss bei Patienten, die mit Oxazaphosphorinen behandelt werden, zu vermeiden ist. Sowohl CP als auch IFO zeigen eine ausgeprägte Selbstinduzierung der P450 Isoenzyme bei mehrfacher (fraktionierter) Gabe (Lewis LD, 1996; Kurowski V und Wagner T, 1993; Schuler U et al, 1987).

Während Phenobarbital praktisch kaum noch verwendet wird und verzichtbar erscheint, stellt Dexamethason (DEX) eine häufige Begleitmedikation der hochdosierten Chemotherapie mit Alkylantien dar (Perez A et al., 1998; Lofters W et al., 1997). Obligat ist die Anwendung von DEX bei Hirntumoren oder –metastasen zur Hirnödemprophylaxe (Korfel A und Thiel E, 2000; Schackert G et al., 2000; Wen PJ und Loeffler JS, 1999; Kristensen CA et al., 1992). Auch ist es Bestandteil einiger Chemotherapieprotokolle lymphatischer Systemerkrankungen (Morbus Hodgkin/ Non-Hodgkin-Lymphome). Einen großen Stellenwert nimmt es in der antiemetischen Prophylaxe und Therapie ein (Scarvec T et al., 2007; Grote T et al., 2006; Kris MG et al., 2006). Der genaue Wirkmechanismus, durch den Kortikosteroide Übelkeit und Erbrechen verhindern, ist unklar. Diskutiert werden unter anderem eine Zellmembranstabilisierung im Bereich der Chemotherapie-triggerzone und eine Beeinflussung der Emesis über eine Hemmung der Prostaglandinsynthese. Kortikosteroide sind in der Monotherapie, vor allem in der Therapie der verzögerten Nausea/Emesis wirksam. Als Kombinationspartner führen sie zu einer deutlichen Wirkungssteigerung der 5-HT₃- und Dopamin-Rezeptor-Antagonisten (Oettle H und Riess H, 2001; Chua DT et al., 2000). Sie gehören daher zu Recht zu den am häufigsten angewendeten Antiemetika. Die am besten untersuchten

Kortikosteroide sind DEX (orale oder intravenöse Applikation dreimal täglich 4 bis 8 mg) und Methylprednisolon (orale oder intravenöse Applikation dreimal täglich 40 mg). Sie zeichnen sich durch eine gute orale Bioverfügbarkeit, vergleichsweise niedrige Kosten und in Studien wiederholt belegte hohe Effektivität aus. Im Rahmen der antiemetischen Therapie wird DEX zwar häufig eingesetzt, ist jedoch kein obligater Bestandteil. Der Einsatz von DEX in dieser Indikation richtet sich in der Regel nach den Erfahrungen der einzelnen Kliniken und Ärzte und wird zum Teil auch innerhalb einer Behandlungseinheit unterschiedlich gehandhabt. Auch hängt die Frage des Einsatzes von DEX häufig vom Ausmaß des Vomitus, der bei einzelnen Patienten in vorausgegangenen Chemotherapiezyklen beobachtet wurde, ab. Meist liegen in Behandlungsprotokollen keine festen Angaben vor. Bei der Aufdeckung negativer Arzneimittelinteraktionen wäre zukünftig auch ein genereller Verzicht von DEX als Antiemetikum bei einer oxazaphosphorinhaltigen Chemotherapie denkbar.

In einer experimentellen Arbeit der Arbeitsgruppe um Waxman aus Boston/Massachusetts (Yu LJ et al., 1999) konnte gezeigt werden, dass die beiden Metabolisierungswege von IFO durch eine Reihe von Induktoren, wie beispielsweise DEX, ganz unterschiedlich beeinflusst werden, was erhebliche therapeutische Implikationen haben könnte. So wird bei der Ratte durch eine DEX-Begleitmedikation die CAA-Bildung um das 10fache gesteigert, während gegenläufig Spitzenspiegel und AUC von 4-CP geringfügig abfallen. Aufgrund der noch widersprüchlichen Ergebnisse zur Bedeutung des CAA in der Tumorthherapie mit Oxazaphosphorinen kann noch nicht abgeschätzt werden, ob dies für die Therapie eine positive oder negative Beeinflussung der Metabolisierung und Pharmakokinetik ist. Die von Yu und Kollegen (Yu et al., 1999) vorgestellten Ergebnisse waren

jedoch Anlass, in einer klinischen Studie zu prüfen, ob auch beim Menschen entsprechende quantitative Veränderungen in der Metabolisierung von IFO und CP vorliegen, wenn vor Therapiebeginn eine Enzyminduktion durch DEX erfolgt.

Die Zielsetzung unserer Studie war es zu untersuchen, ob die kurzfristige Anwendung von DEX im Rahmen der antiemetischen Prophylaxe die Pharmakokinetik der Oxazaphosphorin-Zytostatika IFO und CP beim Menschen beeinflusst oder nicht. Hierfür wurden Spitzenspiegel und AUC von Muttersubstanz und den aktiven Metaboliten CAA und 4-OH-IFO bzw. 4-OH-CP im Blut von Patienten, die im Rahmen häufig verwendeter Chemotherapieprotokolle mit IFO und CP behandelt wurden, bestimmt. Die Ergebnisse unserer Studie sollen die Frage beantworten, ob DEX weiterhin als Antiemetikum zum Einsatz kommen kann, ohne Metabolismus, Antitumorwirkung und Nebenwirkungsspektrum der Oxazaphosphorine zu verändern.

III. PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN

1. Patienten

An der vorliegenden, prospektiv randomisierten Studie haben vier Patientinnen und 13 Patienten im Alter zwischen 25 und 66 Jahren, kaukasischer Zugehörigkeit teilgenommen. Alle Patienten sind aufgrund ihrer malignen Erkrankung mit IFO bzw. CP im Rahmen einer Kombinationschemotherapie behandelt worden. Für beide Studienteile galten als Einschlusskriterien: Alter zwischen 18 und 70 Jahren, gegebene klinische Indikation für das ICE/ PEI-Therapieprotokoll oder die Hochdosischemotherapie mit CP, eine Lebenserwartung von mindestens drei Monaten, Allgemeinzustand nach ECOG/ WHO-Kriterien Grad 0-2 oder Karnofsky-Index von mindestens 60%, so wie das schriftliche Einverständnis der Patienten zur Studienteilnahme. Ausschlusskriterien für eine kurzzeitige DEX-Applikation im Rahmen dieser Studie waren floride Magen- und Dünndarmulcera. Gegenstand der Randomisierung war die Gabe oder Nichtgabe (Verzicht) einer DEX-Begleitmedikation im Rahmen der antiemetischen Therapie. Es wurden 40 mg DEX intravenös über Perfusor in 30 Minuten erstmalig am Nachmittag vor der Chemotherapie (ca. 16 Stunden vor Therapiebeginn) und erneut in gleicher Weise etwa eine Stunde vor Therapiebeginn verabreicht. Als antiemetische Therapie erhielten die Patienten zusätzlich zweimal täglich 8 mg Ondansetron intravenös und bedarfsweise Metoclopramid (20 bis 30 Tropfen) oral. Die weitere Supportivtherapie richtete sich nach den individuellen Erfordernissen der Patienten bzw. nach den entsprechenden Behandlungsprotokollen. Auf die Einnahme CYP450 aktivierender oder hemmender Medikamente oder Substrate während der Studie wurde verzichtet. Alle Patienten nahmen freiwillig an der Studie teil und hatten

jederzeit und ohne Angabe von Gründen die Möglichkeit, ihre Teilnahme abubrechen.

Unsere Studie wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck am 27. April 2000 unter dem Aktenzeichen 00-031 genehmigt.

a) Patienten und Dosierungen des Ifosfamidstudienteils

Acht Patienten erhielten eine IFO-Infusion im Rahmen einer Polychemotherapie bestehend aus Ifosfamid, Carboplatin und Etoposid. Die DEX-Gabe im Zyklus 1 oder 2 wurde randomisiert (intraindividueller Vergleich). Nach der Prämedikation von DEX bzw. dem Verzicht hierauf erfolgte die IFO-Infusion in einer Dosierung von 5 g/m² Körperoberfläche über 60 Minuten, es schloß sich eine Infusion 300 mg/m² Carboplatin über 90 Minuten an. Nachfolgend erhielten die Patienten eine Etoposid-Infusion von 100 mg/m² über 60 Minuten. Diese wurde an den Tagen 2 und 3 wiederholt. Ein Patient wurde im Rahmen des PEI-Protokolls (Harstrick A et al., 1991) behandelt. Ihm applizierten wir Cisplatin in einer Dosierung von 20 mg/m² Körperoberfläche über 60 Minuten, gefolgt von Etoposid 75 mg/m² über 60 Minuten und nachfolgend IFO 1 200 mg/m² ebenfalls über 60 Minuten, diese Therapie wurde an den Tagen 2 bis 5 wiederholt.

Tab.1 Patienten des Ifosfamidstudienteils

Patient	Erkrankung	Ifosfamid-Dosis	Randomisierung
1	Hepatisch metastasiertes Mamma-Carcinom	8 000 mg	Z1 mit DEX Z2 ohne DEX
2	Kleinzelliges Bronchial-Carcinom (extended disease)	8 000 mg	Z1 ohne DEX Z2 mit DEX
3*	Primär neuroendokriner Tumor mediastinaler und cerebraler Manifestation	2 250 mg	Z1 ohne DEX Z2 mit DEX

4	Kleinzelliges Bronchial-Carcinom	10 000 mg	Z1 ohne DEX Z2 mit DEX
5	Nicht-kleinzelliges Bronchial-Carcinom, teilweise neuroendokrin differenziert	8 400 mg	Z1 mit DEX Z2 ohne DEX
6	Nicht-kleinzelliges Bronchial-Carcinom, wenig differenziertes Adeno-CA	9 700 mg	Z1 mit DEX Z2 ohne DEX
7	Hepatisch metastasierter CUP	10 000 mg	Z1 ohne DEX Z2 mit DEX
8	Neuroendokriner CUP mit axillären, cervicalen, infraclaviculären und abdominellen Metastasen	8 200 mg	Z1 ohne DEX Z2 mit DEX
9**	Kleinzelliges Bronchial-Carcinom	9 500 mg	Z1 ohne DEX Z2 mit DEX

* dieser Patient wurde nach dem PEI-Protokoll behandelt

**dieser Patient musste aufgrund der Einnahme einer antikonvulsiven Therapie nachträglich von der Studie ausgeschlossen werden

b) Pharmakokinetik des Ifosfamidstudienteils

Die Bestimmung der Konzentrationen von IFO, seinen aktiven Metaboliten 4-OH-IFO und CAA im Plasma erfolgte zu den Zeitpunkten 0; 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 4; 6; 8; 10; 24 und 30 Stunden nach Beginn der IFO-Infusion. Hierfür wurden den Patienten zu den angegebenen Zeitpunkten drei ml Blut aus einem permanenten venösen Zugang entnommen. Alle Blutproben wurden sofort, wie unten beschrieben, weiterverarbeitet.

c) Patienten und Dosierungen des Cyclophosphamidstudienteils

Für diesen Studienteil konnten sieben Patienten und eine Patientin rekrutiert werden. Alle Patienten wurden bei gegebener klinischer Indikation mit einer Hochdosis-Cyclophosphamid-Therapie in Kombination mit Busulfan bzw. einer fraktionierten Ganzkörperbestrahlung und anschließender autologer Blutstammzelltransplantation behandelt. Entsprechend der

Randomisierung erhielten die Patienten eine DEX-Prämedikation (analog zum IFO-Studienteil) oder es wurde darauf verzichtet. Da diese Hochdosistherapie in der Regel nur einmal appliziert wird, musste ein interindividueller Vergleich hinsichtlich der DEX-Begleitmedikation gewählt werden. CP wurde in einer Dosierung von 60 mg/kg Körpergewicht über eine Stunde an den Tagen -3 und -2 infundiert, 48 Stunden später (Tag 0) erfolgte die periphere Blutstammzell-Transplantation (PBSCT).

Tab 2 Patienten des Cyclophosphamidstudienteils

Patient	Erkrankung	CP – Dosis	Randomisierung
1	AML (FAB M2)	4.700 mg	ohne DEX
2	AML (FAB M4) Hochrisiko Trisomie 11	5.500 mg	mit DEX
3	AML (FAB M4)	5.200 mg	mit DEX
4	Marginalzonenlymphom (Stadium IV b)	5.000 mg	mit DEX
5	B-CLL	5.000 mg	ohne DEX
6	Hochmalignes B-NHL	5.500 mg	ohne DEX
7	M. Hodgkin (Stadium IV b)	3.000 mg	mit DEX
8	AML (FAB M2)	5.700 mg	ohne DEX

d) Pharmakokinetik des Cyclophosphamidstudienteils

Die Untersuchung der Plasmakonzentrationen von Cyclophosphamid und seinen Metaboliten 4-OH-CP und CAA erfolgte zu den Zeitpunkten 0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 6; 8; 10; 24 und 28 Stunden nach Beginn der CP-Infusion. Analog zum IFO-Studienteil wurden zu jedem Zeitpunkt drei ml Blut entnommen. Die Blutproben wurden, wie unten beschrieben, weiterverarbeitet.

2. Methoden

a) Ifosfamid-Messung

Zur Plasmaspiegelbestimmung von IFO wurde den Patienten ein ml Blut mit einer heparinbenetzten Spritze entnommen und für den Transport in das Labor auf Eis gelagert. Die Blutprobe wurde in ein konisch zulaufendes, 1,5 ml fassendes Reagiergefäß (Fa. Eppendorf) überführt und drei Minuten bei 3500 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und in einem Reagiergefäß eingefroren. Die weitere Aufarbeitung und die Messung am Gaschromatographen erfolgte nach der von Kurowski (Kurowski V und Wagner T, 1993) beschriebenen Methode unserer Arbeitsgruppe. Zu 100 µl des aufgetauten Plasmas wurden in einem Schiffstopfenglasröhrchen 10 µl internen Standards (bestehend aus 32,36 mg Trofosfamid [MG 323,6] gelöst in 10 ml aqua dest. und nachfolgend nochmals mit aqua dest. 1:20 verdünnt) pipettiert. Trofosfamid ist ebenfalls ein Oxazaphosphorinzytostatikum, weist aber im Gegensatz zu IFO und CP nicht zwei sondern drei β-Chlorethylgruppen auf. Für die Verwendung als interner Standard in der N/P-Flammenionisationschromatographie ist es wichtig, dass Trofosfamid dieselbe Anzahl an Stickstoff- (N) und Phosphor- (P) Atomen enthält, wie IFO und CP. Bei der anschließenden Extraktion aus der wässrigen in die organische Phase wurden zwei ml Dichlormethan dazugegeben, fünf Sekunden geschüttelt und durch einen Rundfilter in ein neues Schiffstopfenglasröhrchen filtriert. Der Überstand wurde erneut mit zwei ml Dichlormethan versetzt, fünf Sekunden geschüttelt und danach zum ersten Filtrat filtriert. Am Rotationsverdampfer wurde die Probe eingeeengt und danach der Rückstand mit 200 µl Ethylacetat aufgenommen und in ein GC-Gefäß überführt. Ein µl wurde in den Gaschromatographen (Hewlett Packard 5890 Series II) mit einer HP5 Säule (5% PhMeSilicone 10m x 0,53mm x 2,65µm) injiziert. Die Temperatur des Ofens betrug 130°C mit

einem Anstieg um 40°C/Minute bis auf 250°C, die für sechs Minuten gehalten wurden. Die Temperaturen für den Injektor und den NP- Detektor waren 190°C und 300°C. Als Trägergas wurde Helium mit einem Flow von 12 ml/Minute verwendet. Die Retentionszeiten von IFO und von Trofosfamid betragen 3,8 und 6,5 Minuten.

b) 4-Hydroxy-Ifosfamid-Messung

Die Grundlage dieser Methode beruht auf der Eigenschaft von „aktiviertem“ Ifosfamid (4-Hydroxy-Ifosfamid, seinem azyklischen Tautomer Aldoifosfamid und 4-S,R-Sulfidoifosfamid) in der sogenannten Giftungsreaktion Acrolein freizusetzen. Dieses bildet mit 3-Aminophenol unter sauren Bedingungen das fluoreszierende 7-Hydroxy-Chinolin (Alarcon RA, 1968). In Anlehnung an die von Bohnenstengel (Bohnenstengel et al., 1997) verwendete Methode wurde das Derivatisierungsgemisch ohne Extraktionsverfahren mittels HPLC chromatographisch aufgetrennt und durch Fluoreszenzdetektion quantitativ gemessen. Hierfür wurde in einer zwei- ml Spritze ein ml eigekühlte 10%ige Trichoressigsäure vorgelegt. Nach Entnahme von ein ml Patientenblut wurde beides sofort gut vermischt und für den Transport in das Labor auf Eis gelagert. Die Blutprobe wurde in ein 1,5 ml fassendes Reagiergefäß überführt, drei Minuten bei 3500 x g zentrifugiert und zwei mal je 500 µl Überstand zu je 600 µl Reagenzlösung (250 mg 3-Aminophenol und 300 mg Hydroxylammoniumchlorid in 100ml 1N Salzsäure) gegeben, geschüttelt und 20 Minuten bei 95°C derivatisiert. Anschließend wurden die Proben kurz anzentrifugiert (zum Abkühlen und Tropfenfangen) und sofort gemessen oder bei -18°C bis zur Messung eingefroren. Die Trennung wurde an der HPLC (Hewlett Packard Series 1050) mit einer Chromsep HPLC-Säule SS (Chrompack 5 µm, 150 x 4,6 mm) überführt und 100 µl in die HPLC injiziert. Das Fließmittel bestand zu 96% aus 0,5%

Phosphorsäure und 4 % Acetonitril, pH 2,2. Die Excitations- und Emissionswellenlänge betragen 350 nm und 515 nm. Die Retentionszeit für 4-OH-IFO befindet sich bei 9,5 Minuten. Für die Standardreihe wurde Vollblut 1:1 mit 10%iger Trichloressigsäure versetzt, geschüttelt, zentrifugiert und der Überstand abpipettiert. Hierzu wurden bekannte Mengen von 4-OH-Cyclophosphamidsalz (Mafosamidcyclohexylaminsalz, ASTA Medica, Frankfurt, Deutschland) gegeben.

c) Chloracetaldehyd-Messung

Vor Beginn der Blutentnahmen wurde eine Standardreihe von 1 µmol/l bis 50 µmol/l durch Zugabe bekannter Mengen an CAA (MG 78.5) zu Mischplasma gesunder Freiwilliger erstellt. Für die Blutentnahme wurde eine ein ml-Spritze mit 100 µl 3.7% Formaldehyd versetzt.

Die unverzügliche Zugabe von Formaldehyd zu den Blutproben ist notwendig, um CAA durch einen Überschuss an Aldehydgruppen zu stabilisieren. Bei Lagerung des Überstands bei 4°C bleibt das CAA für etwa 24 Stunden recht stabil. Ohne Formaldehyd würde sich der Gehalt an CAA jedoch schnell verringern, nach sechs Minuten bereits um 50% und nach 20 Minuten um 100% (Kurowski und Wagner, 1993). Formaldehyd stört bei der Bestimmung auch in hohem Überschuss nicht, da bei der EC (Electron Capture)- Detektionsmethode ausschließlich die negativ geladenen Chlorid-Ionen des CAA erfasst werden, die beim Formaldehyd nicht vorliegen.

Den Patienten wurde ein ml Blut entnommen, die Probe sofort gut geschüttelt und auf Eis gelagert. Im Labor wurde das Blut in ein 1,5 ml fassendes Reagiergefäß überführt und drei Minuten bei 3500 x g zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und im Kühlschrank gelagert. Alle Proben wurden spätestens 24 Stunden nach der Blutentnahme am Gaschromatographen gemessen. Hierfür wurde der Überstand in GC-

Gefäße pipettiert. Anschließend wurde 1 µl in den Gaschromatographen mit einer HP-Säule (crosslinked 5% PHMeC Silicone 25 m x 0,32 mm x 1,05 µm) injiziert. CAA wurde durch einen EC Detektor bei 300°C detektiert. Die Ofentemperatur betrug für drei Minuten 35°C und wurde dann mit 45°C/Minute auf 120°C erwärmt, die eine Minute gehalten wurden. Die Injektionstemperatur betrug 200°C. Trägergas war Helium (Flow: 1.8 ml/Minute bei 63kPa, Split 100, Purge 5.6) Als MakeUp-Gas wurde Stickstoff (Flow 60 ml/Minute) eingesetzt. Die Retentionszeit für CAA beträgt 2,8 Minuten.

d) Cyclophosphamid-Messung

Die CP-Messung erfolgte analog zur IFO-Messung.

e) 4-Hydroxy-Cyclophosphamid-Messung

Die 4-OH-CP-Messung erfolgte analog zur 4-OH-IFO-Messung

3. Biometrie

Die terminale Halbwertszeit ($t_{1/2}$), der Spitzenspiegel (c-max), ebenso wie die „area under the concentration-time-curve“ (AUC) wurden jeweils für die Muttersubstanzen IFO und CP, die 4-OH-Metabolite und CAA mit Hilfe eines Pharmakokinetik-Computer-Programms (Topfit 2.0 „Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis System for the PC“, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart) kalkuliert.

Beim Ifosfamidstudienteil wurde mittels des Wilcoxon-Test für Paardifferenzen (Sachs L, 1997) AUC, c-max und $t_{1/2}$ jeweils mit und ohne DEX verglichen und die Irrtumswahrscheinlichkeit p berechnet.

Beim Cyclophosphamidstudienteil war eine biometrische Überprüfung im interindividuellen Vergleich nicht möglich, so dass bei einer orientierenden Untersuchung die statistische Auswertung entfällt.

IV. ERGEBNISSE

Wir untersuchten die Konzentrationen von IFO und dessen aktiven Metaboliten 4-OH-IFO und CAA über 30 Stunden im Plasma von neun Patienten in zwei aufeinanderfolgenden Chemotherapiezyklen. Es wurde je nach Randomisierung entweder in Zyklus 1 oder in Zyklus 2 eine DEX-Begleitmedikation im Rahmen der antiemetischen Therapie appliziert. Einer der neun Patienten musste ausgeschlossen werden, da ihm während der Studie antikonvulsive Medikamente verabreicht worden waren, von denen bekannt ist, dass sie einen außerordentlichen Einfluss auf die CYP 450 Oxidasen haben. Des Weiteren untersuchten wir die Konzentrationen von CP und dessen aktiven Metaboliten 4-OH-CP und CAA über 28 Stunden im Plasma von acht Patienten je nach Randomisierung entweder nach Vorbehandlung mit DEX oder ohne. Im Folgenden werden die Ergebnisse graphisch dargestellt.

1. Plasmaspiegel des Ifosfamidstudeinteils

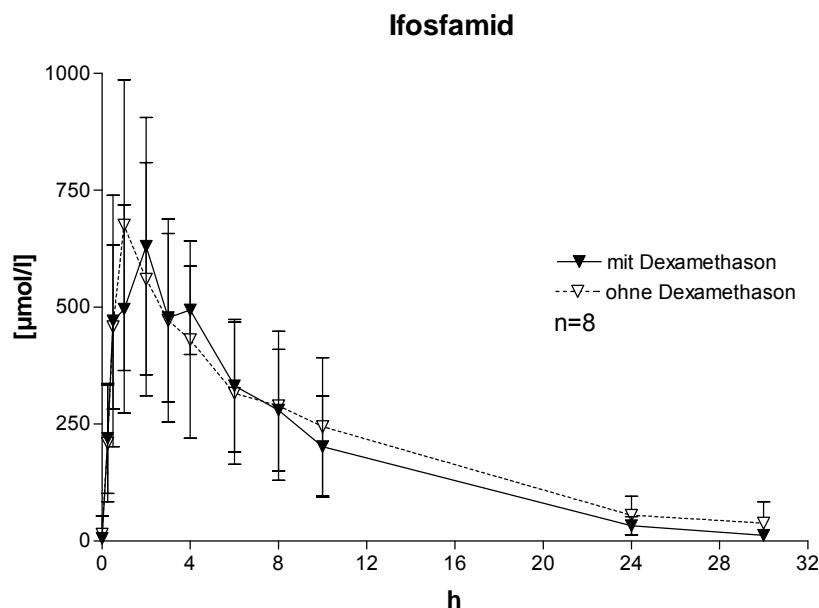


Abb. 2 Plasmaspiegel von IFO +/- DEX

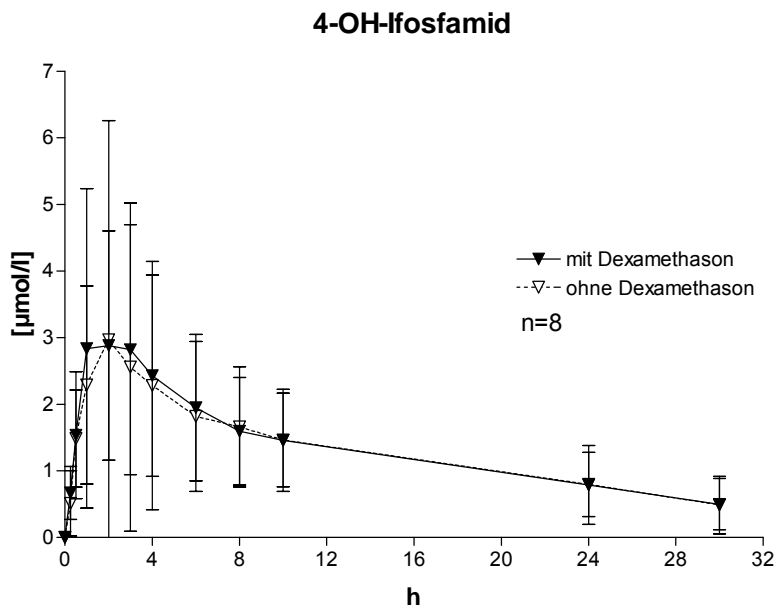


Abb.3 Plasmaspiegel von 4-OH-IFO +/- DEX

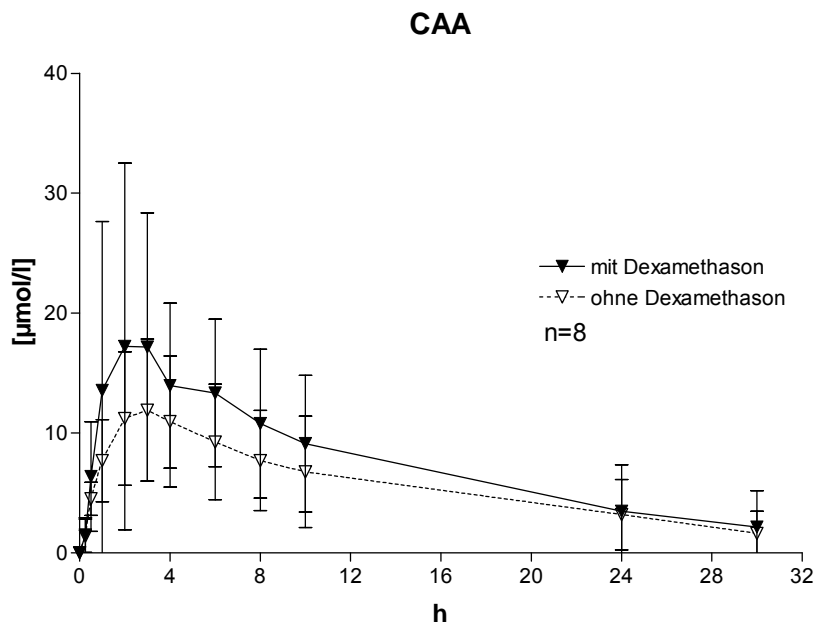


Abb.4 Plasmaspiegel von CAA +/- DEX

Die Konzentrationen für die Muttersubstanz IFO und für 4-OH-IFO sind in der grafischen Darstellung mit oder ohne vorherige DEX-Applikation nahezu identisch, lediglich bei CAA lassen sich höhere Konzentrationen

nach vorheriger DEX-Applikation messen, wobei ein etwas steilerer Abfall zu verzeichnen ist, so dass sich die 24- und 30- Stunden Werte einander nähern.

2. Pharmakokinetische Parameter von Ifosfamid, 4-Hydroxy-Ifosfamid und Chloracetaldehyd

Tabelle 3 zeigt die maximalen Plasmakonzentrationen (c_{max}), die terminale Halbwertszeit ($t_{1/2}$) und die Area under the concentration-time-curve (AUC) über 24 Stunden sowie auf ein unendliches Zeitintervall extrapoliert von IFO und seinen Metaboliten 4-OH-IFO und CAA mit und ohne vorherige DEX-Applikation.

Tab. 3 Pharmakokinetik von IFO, 4-OH-IFO und CAA nach einer Chemotherapie nach dem ICE/ PEI-Studienprotokoll +/-DEX

n=8	$t_{1/2}$ [h]	c_{max} [$\mu\text{mol/l}$]	AUC 0-24	AUC 0- ∞
IFO	5.86 (+/-2.71)	766.5 (+/-274.5)	5890 (+/-2555)	6450 (+/-2945)
IFO + DEX	4.86 (+/-0.49)	715.3 (+/-263.0)	5444 (+/-2288)	5699 (+/-2449)
p	0.128	0.499	0.398	
4-OH-IFO	16.02 (+/-8.81)	2.94 (+/-3.34)	34.44 (+/-19.99)	59.39 (+/-34.60)
4-OH-IFO + DEX	11.22 (+/-4.72)	3.39 (+/-2.10)	35.61 (+/-19.25)	48.62 (+/-28.18)
p	0.499	0.612	0.735	
CAA	10.74 (+/-7.22)	12.68 (+/-5.52)	158.14 (+/-77.07)	272.65 (+/-230.01)
CAA + DEX	9.68 (+/-5.58)	19.50 (+/-15.45)	213.42 (+/-98.37)	285.62 (+/-179.51)
p	0.735	0.237	0.063	

Alle Irrtumswahrscheinlichkeiten p waren größer 0.05, so dass sich weder bei $t_{1/2}$, noch bei c_{max} oder AUC signifikante Unterschiede zwischen IFO und IFO + DEX, zwischen 4-OH-IFO und 4-OH-IFO + DEX oder zwischen CAA und CAA + DEX ergaben. Der Unterschied hinsichtlich der AUC von CAA lag nur knapp unter der statistischen Signifikanzgrenze. Die mediane Fläche unter der Kurve war mit DEX (213.42) deutlich höher als ohne DEX (158.14). Die Stichprobengröße reichte für den Nachweis der statistischen Signifikanz dieses Unterschiedes allerdings nicht aus.

3. Plasmaspiegel des Cyclophosphamid- Studienteils

Wie bei IFO sind die Konzentrationen für CP in der graphischen Darstellung mit und ohne vorherige DEX-Applikation nahezu identisch.

Bei 4-OH-CP sind die Plasmaspiegel ohne DEX in den ersten sechs Stunden höher bei steilem initialen Anstieg und steilem Abfall, so dass sie ab Stunde 6 nahezu identisch sind.

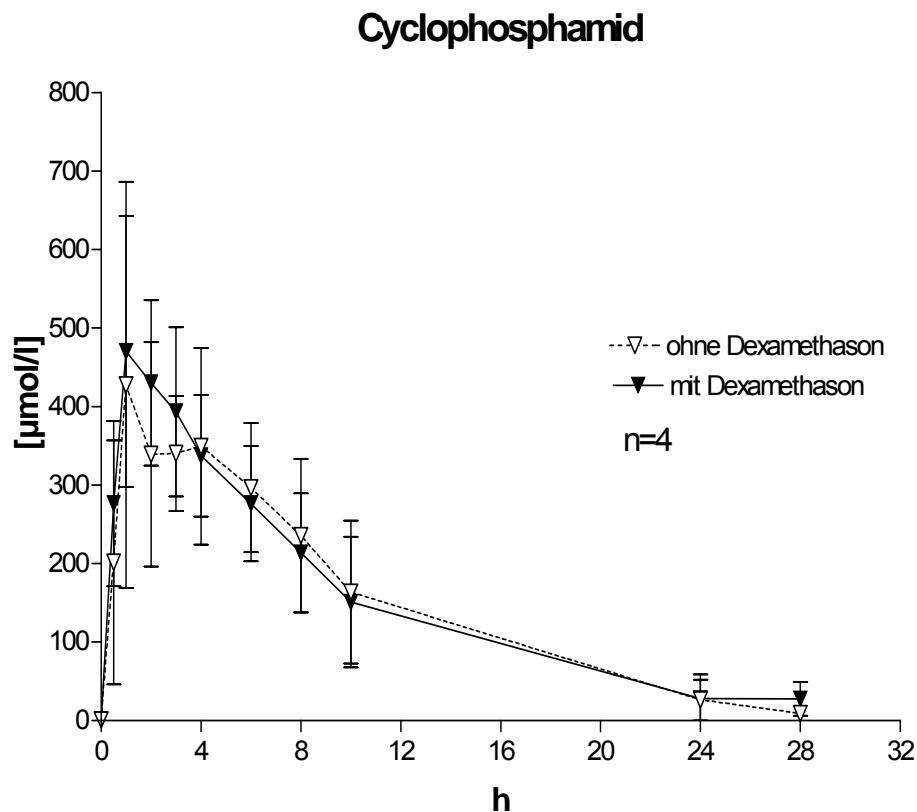


Abb.5 Plasmaspiegel vom CP+/-DEX

4-OH-Cyclophosphamid

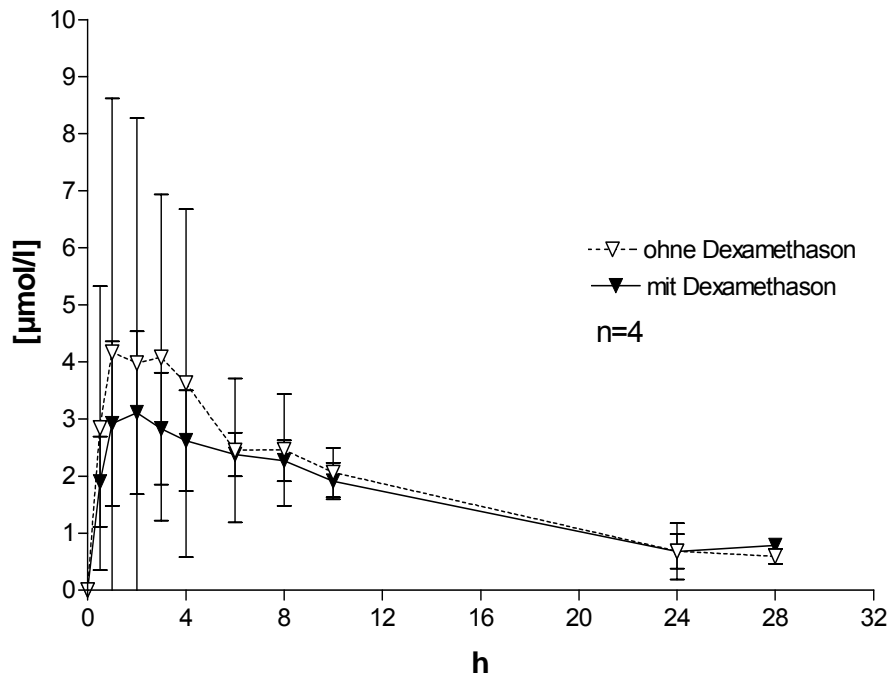


Abb.6 Plasmaspiegel von 4-OH-CP +/-DEX

a) Plasmaspiegel von CAA

CAA scheint auch im Hochdosisbereich nicht in größerer Menge gebildet zu werden. Lediglich bei einer der vier Messungen ohne DEX lassen sich geringe Mengen CAA nachweisen, mit DEX können in allen vier Messungen geringe Mengen gefunden werden. Es zeigte sich aber eine sehr große interindividuelle Streuung. Auf eine grafische Darstellung wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet. Nachfolgend sind die Plasmaspiegelkonzentrationen aller Patienten, bei denen Werte messbar waren tabellarisch aufgelistet.

Tab.4 Plasmaspiegelkonzentrationen von CAA [µmol/l] des einzigen Patienten, bei dem ohne vorherige DEX- Applikation Werte zu messen waren

	0	0.5h	1h	2h	3h	4h	6h	8h	10h	24h	28h
Pat.1	0.00	0.60	2.80	2.17	1.66	1.79	1.25	0.86	0.46	0.08	0.00

Tab.5 Plasmaspiegelkonzentrationen von CAA [$\mu\text{mol/l}$] von 4 Patienten, die DEX im Rahmen der Antiemese erhalten hatten

	0	0.5h	1h	2h	3h	4h	6h	8h	10h	24h	28h
Pat.5	0.00	0.81	1.84	2.40	2.15	2.03	1.81	1.62	1.62	0.63	0.49
Pat.6	0.00	0.00	0.10	0.20	0.10	0.15	0.05	0.00	0.15	0.05	0.00
Pat.7	0.00	1.29	2.53	2.39	1.62	1.39	1.05	0.00	0.00	0.00	
Pat.8		0.00	3.42	4.17	2.96	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

4. Pharmakokinetische Parameter für Cyclophosphamid und 4-Hydroxy-Cyclophosphamid

Tabelle 6 zeigt Cmax, t1/2 und AUC über 24 Stunden und ein unendliches Zeitintervall extrapoliert für CP und 4-OH-CP jeweils mit und ohne vorherige Applikation von DEX.

Tab.6 Pharmakokinetik von CP und 4-OH-CP nach einer Hochdosistherapie und anschließender Stammzelltransplantation +/- DEX

n=8	t1/2 [h]	cmax [$\mu\text{mol/l}$]	AUC 0-24	AUC 0- ∞
CP	4.93 (+/-2.13)	532.8 (+/-87.9)	4208 (+/-990)	4413 (+/-1215)
CP + DEX	5.09 (+/-1.81)	485.1 (+/-155.2)	4284 (+/-1561)	4447 (+/-1747)
4-OH-CP	11.12 (+/-5.99)	4.69 (+/-4.01)	49.32 (+/-22.14)	60.39 (+/-19.61)
4-OH-CP + DEX	14.06 (+/-4.52)	3.13 (+/-1.43)	44.06 (+/-9.48)	56.37 (+/-16.38)

V. DISKUSSION

Die verschiedenen Cytochrom P450 Isoenzyme steuern die Biotransformation vieler endogener und exogener Substanzen. Auch viele Zytostatika werden durch diese Enzyme metabolisiert. So nehmen sie Einfluß auf Ausmaß und Dauer von Arzneimittelwirkungen, indem sie zum Einen Substanzen abbauen und damit inaktivieren und zum Anderern so genannte „Prodrugs“ zu ihren aktiven Metaboliten verstoffwechseln. Auch die beiden Oxazaphosphorinzytostatika IFO und CP bedürfen der CYP450-abhängigen Aktivierung. Die 4-Hydroxy-Metabolite – 4-OH-IFO und 4-OH-CP – werden bei CP größtenteils durch CYP2B6 und bei IFO durch CYP3A4 gebildet (Boddy und Yule, 2001). Die Inaktivierung, die mit der Freisetzung von CAA einhergeht, wird durch CYP3A4 bei CP und durch CYP3A4 und CYP2B6 bei IFO bewirkt. Es existieren widersprüchliche Meinungen zu CAA, einerseits wird es für die unerwünschte Nebenwirkungen Nephro- und Neurotoxizität (Aleksa K et al., 2004; Nicolao P und Giometto B, 2003; Skinner R et al., 1993) verantwortlich gemacht, andererseits wird ihm eine eigenständige zytostatische Aktivität gegen Tumorzellen zugeschrieben (Börner K et al., 2000; Brüggemann SK et al., 1997). Eine Änderung des Metabolismus könnte so zu einer Änderung der Antitumoraktivität oder des Nebenwirkungsspektrums führen. Mit einer Komedikation, die die verschiedenen CYP450 Isoenzyme induziert oder hemmt, lässt sich somit Einfluss auf das Gleichgewicht zwischen Aktivierung (4-Hydroxylierung) und Inaktivierung (Dechloroethylierung) nehmen.

Kerbusch und Kollegen (Kerbusch et al., 2001) untersuchten in einer klinischen Studie den Einfluß des CYP3A4 hemmenden Antimykotikums Ketoconazol und des CYP3A4 und CYP 2B6 induzierenden Antibiotikums

Rifampicin auf den Metabolismus von IFO. Sie fanden heraus, dass durch eine Rifampicin-Komedikation mehr IFO metabolisiert wird, 4-OH-IFO änderte sich nicht signifikant, die Stoffwechsellage war allerdings geringfügig zugunsten der Dechloroethylierung verschoben. Applizierte man Ketoconazol, war das Gegenteil der Fall, das Gleichgewicht war in Richtung vermehrter 4-Hydroxylierung verschoben. Die Autoren zogen die Schlussfolgerung, dass eine gleichzeitige Applikation von IFO und Rifampicin oder Ketoconazol zu keiner Änderung der Pharmakokinetik von Muttersubstanz oder ihrer Metaboliten führt, die die Ifosfamidwirkung weiter beeinflussen würde.

Der kurzzeitige Einsatz von DEX als antiemetisches Medikament im Rahmen einer Chemotherapie ist nicht standardisiert und hängt von den Erfahrungen des behandelnden Arztes ab. Als Enzyminduktor über CYP3A4 (Walker D et al, 1994) und den sich daraus ergebenden Veränderungen im CYP450 abhängigen Metabolismus der Oxazaphosphorinzytostatika IFO und CP verdient es einen besonderen Augenmerk. Die von uns gemessenen Pharmakokinetiken von IFO und CP ohne vorherige Enzyminduktion durch DEX stimmen mit den von Cerny A et al., 1990; Dechant KL et al., 1991; Lewis LD et al., 1990 und Lind MJ et al., 1989 beschriebenen Daten überein und zeigen eine große Streuung entsprechend der in der Literatur beschriebenen interindividuellen Unterschiede in der Aktivität des CYP450- Systems der menschlichen Leber (Lamba et al., 2002; Shimanda et al., 1996). Das Geschlecht scheint eine wichtige Rolle bei der Enzymaktivität, insbesondere von CYP3A4, zu spielen. So konnte Wolbold (Wolbold et al., 2003) in einer Studie mit 94 chirurgisch gewonnen Leberproben zeigen, dass ein höherer Gehalt an CYP3A4 und CYP3A4mRNA in den Proben der weiblichen Patienten vorlag. Auch altersabhängige Veränderungen scheinen Einfluss auf die

Aktivität des CYP450-Systems zu haben. In einer Messung des CYP450 Gehalts und Aktivität in Leberbiopsien von 226 Patienten konnte gezeigt werden, dass der Metabolismus mit zunehmendem Alter abnimmt (Sontaniemi et al., 1997). Desweiteren scheinen Männer von der altersabhängigen Abnahme der Enzymaktivität mehr betroffen zu sein als Frauen (Cotreau et al., 2005; Wolbold et al., 2003; George et al., 1995). Auch eine genetische CYP450-Varianz scheint den Metabolismus und die Pharmakokinetik zu beeinflussen. Polymorphismen einiger Gene werden mit der Zunahme der toxischen Nebenwirkungen einer Chemotherapie oder auch einer Zytostatikaresistenz (Evans et al., 2003 ; Ulrich et al., 2003) in Verbindung gebracht.

In unseren Versuchen mit IFO waren Spitzenspiegel und AUC von CAA nach Applikation von DEX um ca. das 1,5-fache höher als ohne DEX. Für den Nachweis einer statistischen Signifikanz dieses Unterschieds war die Fallzahl unserer Studie zu gering und die Standardabweichung zu groß. Bei der Pharmakokinetik von IFO und 4-OH-IFO konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Unsere Ergebnisse unterschieden sich von Brain et al. (Brain EGC et al., 1998), die die Pharmakokinetik von IFO nach einer Vorbehandlung mit DEX an einem Tiermodell mit Ratten untersuchten. Anders als wir, fand diese Arbeitsgruppe eine Abnahme der AUC der beiden Metabolite, 4-OH-IFO und CAA, wohingegen sich die AUC der Muttersubstanz nicht veränderte. Brain et al. hatten postuliert, dass beim Metabolismus von IFO ein empfindliches Gleichgewicht zwischen der therapeutisch gewünschten 4-Hydroxylierung und der unerwünschten Arzneimittelinaktivierung – der Dechloroethylierung – besteht. Ratten wurden entweder mit IFO allein oder in Kombination mit verschiedenen CYP-Induktoren oder –Inhibitoren behandelt, um eine vermehrte Bildung von 4-OH-IFO zu erzielen.

Dieselbe Arbeitsgruppe (Yu LJ et al, 1999) stellte ein Jahr später Ergebnisse vor, die sich ebenfalls von den unseren unterschieden. Erneut war am Tiermodell mit Ratten untersucht worden, wie sich die beiden kompetitiven Metabolisierungswege, nun bei CP, beeinflussen lassen. Yu et al. konnte zeigen, dass nach einer DEX-Vorbehandlung bei gliosarkomtransplantierten Ratten die CAA-Bildung immens gesteigert werden kann: der Spitzenspiegel von CAA stieg um das 8,5-fache, während die AUC um das 4-fache gesteigert werden konnte. Gegenläufig fielen Spitzenspiegel und AUC von 4-OH-CP geringfügig ab. Wir fanden bei unserer Studie im CP-Hochdosisbereich, dass beim Menschen im Gegensatz zur Ratte, auch nach Enzyminduktion mit DEX, keine größeren Mengen CAA gebildet werden. Allerdings sahen wir eine sehr große interindividuelle Streuung der CAA-Werte in der CP-Teilstudie. Dies könnte ein Hinweis auf die Zugehörigkeit der Patienten zu unterschiedlichen Metabolisierungstypen sein. Der Metabolismus von CP wird hauptsächlich von CYP2B6 übernommen und es werden große Unterschiede der Enzymaktivität beschrieben (Xie et al., 2003). Mindestens zehn Nucleotid Polymorphismen sollen vorliegen. Einige von ihnen führen zum Austausch einer Aminosäure und kodieren ein Protein mit verminderter enzymatischer Aktivität. Allerdings liegen bisher keine klinischen Studien vor, die Veränderungen der Pharmakokinetik von CP mit Veränderungen des Genotyps in Zusammenhang bringen.

Um das Nebenwirkungsspektrum der Oxazaphosphorine zu reduzieren, behandelten Yu et al. (Yu et al., 1999) in einem weiteren Experiment gliosarkomtransplantierte Ratten mit CP in Kombination mit dem CYP 3A4 spezifischen Inhibitor Troleandomycin, einem Makrolidantibiotikum, und dem CYP 2B stimulierenden Phenobarbital. Man wollte die Bildung von CAA unterdrücken um die Produktion von 4-OH-CP zu steigern.

Obwohl sich die Plasma-AUC von 4-OH-CP durch Behandlung mit den CYP450-Modulatoren verdoppelte, ließ sich keine Verbesserung des Antitumoreffekts beobachten. Frühere Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe hatten eine eigenständige zytotoxische Aktivität von CAA sowohl in vitro (Brüggemann SK et al., 1997) als auch in vivo (Börner K et al., 2000) zeigen können, die eine plausible Erklärung dieses für die Autoren überraschenden und nicht interpretierbaren Ergebnisses liefern. Die Verschiebung der Stoffwechsellage hatte neben der Verdoppelung der 4-OH-CP Spiegel zu einer Halbierung des CAA geführt. Hätte eine höhere 4-OH-CP Produktion zu einer stärkeren zytotoxischen Wirkung führen können, so war doch der Beitrag von CAA zur Antitumorwirkung vermindert worden. Dies führte letztendlich wohl dazu, dass sich die Gesamttoxizität auf die Tumorzellen nicht änderte. Allerdings zeigen unsere hier vorgestellten Daten, dass sich durch eine kurzzeitige DEX-Komedikation im Rahmen der antiemetischen Prophylaxe keine signifikante Erhöhung der Spitzenspiegel und der AUC von CAA beim Menschen im Gegensatz zum Tiermodell erreichen lässt. Somit ist auch keine Änderung der Antitumorwirkung und des Nebenwirkungsspektrums zu erwarten.

Auch wenn der Einsatz von DEX als Antiemetikum zwar nicht standardisiert aber sehr häufig ist, existieren in der Literatur nur wenige Daten über den Einfluss von DEX auf Pharmakokinetik und Antitumoreffekt von Zytostatika. Wang et al. (Wang H et al., 2004) untersuchte die Pharmakokinetik von Carboplatin und Gemcitabine nach einer DEX-Vorbehandlung bei xenotransplantierten Nacktmäusen. Sie fanden keine signifikanten Unterschiede in der Plasma-Pharmakokinetik von Carboplatin bei Mäusen mit menschlichen Colonicarcinomxenocraften und menschlichen Lungencarcinomxenocraften. Es zeigten sich allerdings bei den colonicarcinomtransplantierten Mäusen eine längere Halbwertszeit

und ein geringerer Spitzenspiegel bei vergleichbarer AUC, nach vorheriger DEX- Applikation. Auch die Plasmapharmakokinetik von Gemcitabine bei lungencarcinomtransplantierten Mäusen änderte sich nach Enzyminduktion mit DEX nicht bedeutend. Wieder waren AUC vergleichbar, während Spitzenspiegel reduziert und die Halbwertszeiten verlängert waren. Die Ergebnisse für Carboplatin konnten von derselben Arbeitsgruppe in einem Versuch mit CD1-Mäusen bestätigt werden (Wang H et al, 2004a). Erneut fand sich kein signifikanter Unterschied bei der AUC von Carboplatin zwischen DEX-vorbehandelten Mäusen und einer Kontrollgruppe. Es ließen sich wiederum erniedrigte Spitzenspiegel und eine verlängerte Halbwertszeit messen. Zusätzlich wurden kleine aber signifikante Unterschiede in der Pharmakokinetik von Gemcitabine gefunden: Die Plasma- AUC war nach vorheriger DEX-Applikation erniedrigt und die Halbwertszeit verkürzt. Dieses Ergebnis unterschied sich von früheren Ergebnissen derselben Arbeitsgruppe.

In unseren Untersuchungen bewirkte eine kurzzeitige Applikation von DEX ebenfalls keine klinisch relevanten Veränderungen der Pharmakokinetik der Oxazaphosphorine. Ein weiterer Einsatz von DEX als Antiemetikum bei Chemotherapieprotokollen, die IFO oder CP beinhalten, kann bedenkenlos erfolgen. Dabei ist keine Änderung der antitumoralen Wirkung oder des Nebenwirkungsspektrums zu erwarten. Die von Yu et al. nachgewiesene gesteigerte CAA-Bildung bei einer CP-Behandlung von Ratten nach vorheriger Stimulation mit DEX, können wir mit unserer Studie nicht bestätigen. Allerdings lassen sich für den Menschen die aus der Literatur bekannten Daten bestätigen, dass es im CP-Hochdosisbereich zu keiner signifikant erhöhten CAA-Freisetzung kommt, auch nicht nach vorheriger Enzyminduktion (Skinner R et al, 1993; Lind MJ et al, 1989). Die Unterschiede im Metabolismus von IFO und CP zwischen

verschiedenen Spezies verdeutlicht die eingeschränkte Übertragbarkeit solcher Tiermodelle auf den menschlichen Arzneimittelmetabolismus.

Ausblick: Letztendlich ist bisher nicht klar, wie schnell CYP3A4 bei welcher DEX-Dosierung induziert wird. In weiteren Studien ließe sich der Einfluss einer kontinuierlichen DEX-Applikation, wie sie zum Beispiel als Hirnödemprophylaxe bei cerebral metastasierten Malignomen verabreicht wird, auf den Metabolismus der Oxazaphosphorine untersuchen.

Man könnte die Pharmakokinetik von IFO und CP bei Patienten verschiedenen Alters, Geschlechts und unterschiedlicher begleitender Erkrankungen (Leber- und Nierenfunktionseinschränkungen) vergleichen.

Als problematisch anzumerken bleibt allerdings die Schwierigkeit der Rekrutierung einer für die statistische Signifikanz ausreichend große Patientenzahl mit gegebener klinischer Indikation für diese Chemotherapieregime.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Dexamethason wird häufig als Antiemetikum bei Chemotherapien eingesetzt. Es ist bekannt, dass es als potenter Induktor der hepatischen Zytochrom P450 Oxidasen zu signifikanten Änderungen der Pharmakokinetik, der Aktivität und des Nebenwirkungsspektrums aller Substanzen führen kann, die durch diese Enzyme verstoffwechselt werden. Das Ziel unserer Studie war es zu untersuchen, ob ein kurzzeitiger Einsatz von Dexamethason die Pharmakokinetiken der Zytochrom P450 Oxidasen-abhängigen Oxazaphosphorine Ifosfamid und Cyclophosphamid bei Patienten beeinflusst. Hier für wurden Spitzenspiegel und AUC der Muttersubstanzen und ihrer aktiven Metabolite Chloracetaldehyd und 4-Hydroxy-Ifosfamid/ 4-Hydroxy-Cyclophosphamid bestimmt. Neun Patienten wurden während zwei aufeinander folgenden Chemotherapiezyklen nach dem ICE-Protokoll (Ifosfamid, Carboplatin und Etoposid) untersucht. Nach Randomisierung erhielten sie in einem der beiden Zyklen Dexamethason als Koantiemetikum, im jeweils anderen Zyklus wurde darauf verzichtet. Acht Patienten erhielten eine Hochdosistherapie mit Cyclophosphamid und anschließender Stammzelltransplantation, nach Randomisierung erhielten vier Patienten Dexamethason im Rahmen der antiemetischen Prophylaxe, vier Patienten nicht. Die Plasmaspiegel von Ifosfamid und 4-Hydroxy-Ifosfamid waren ähnlich, es fanden sich keine signifikanten Unterschiede bei Spitzenspiegeln und AUC. Die Halbwertszeiten aller drei Substanzen waren kürzer, allerdings waren die Unterschiede nicht signifikant. Im Gegensatz zu Ifosfamid und 4-Hydroxy-Ifosfamid fanden wir beim Chloracetaldehyd etwa 1,5-fach erhöhte Spitzenspiegel nach vorheriger Dexamethason- Applikation, allerdings waren auch diese Unterschiede nicht statistisch signifikant. Bei Cyclophosphamid und 4-Hydroxy-Cyclophosphamid ließen sich keine signifikanten Änderungen

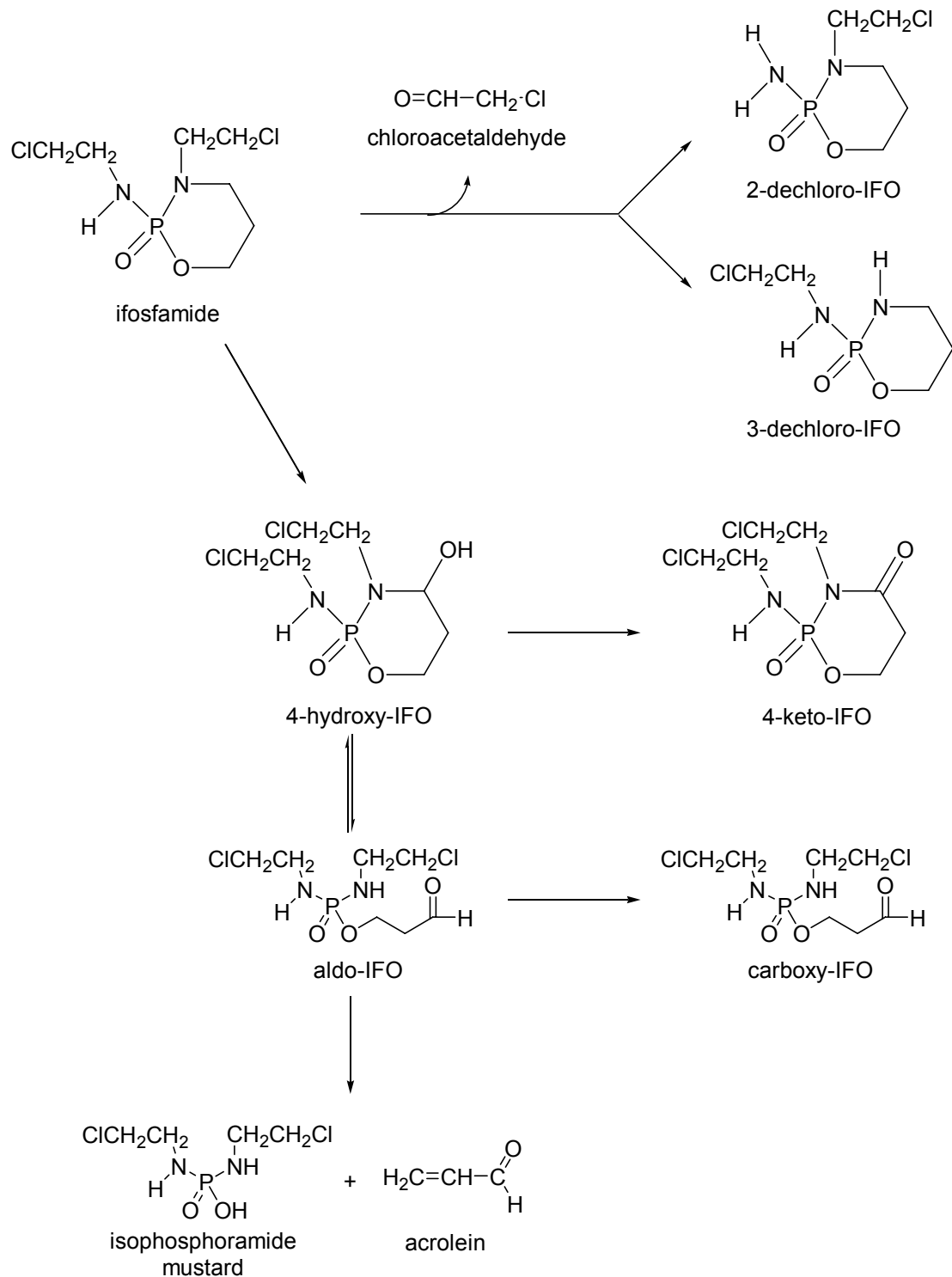
von Spitzenspiegeln und AUC finden, Chloracetaldehyd scheint auch im Hochdosisbereich von Cyclophosphamid nicht in größeren Mengen gebildet zu werden. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Dexamethason im Rahmen der antiemetischen Prophylaxe keine klinisch relevanten Änderungen der Pharmakokinetik von Ifosfamid und Cyclophosphamid bewirkt. Daher kann Dexamethason in der Kurzzeitanwendung weiterhin sicher als Antiemetikum bei oxazaphosphorinhaltenen Chemotherapieprotokollen eingesetzt werden.

VII. VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN UND TABELLEN

Abb.1	Strukturformel von IFO und CP	S.5
Tab.1	Patienten des Ifosfamidstudienteils	S.13
Tab.2	Patienten des Cyclophosphamidstudienteil	S.15
Abb.2	Plasmaspiegel von IFO +/- DEX	S.20
Abb.3	Plasmaspiegel von 4-OH-IFO +/- DEX	S.21
Abb.4	Plasmaspiegel von CAA +/- DEX des Ifosfamidstudienteils	S.21
Tab. 3	Pharmakokinetik von IFO, 4-OH-IFO und CAA	S.22
Abb.5	Plasmaspiegel von CP +/- DEX	S.23
Abb.6	Plasmaspiegel von 4-OH-CP +/- DEX	S.24
Tab.4	Plasmaspiegel von CAA - DEX des Cyclophosphamidstudienteils	S.24
Tab.5	Plasmaspiegel von CAA + DEX des Cyclophosphamidstudienteils	S.25
Tab.6	Pharmakokinetik von CP u. 4-OH-CP +/- DEX	S.25

VIII. Anhang

1. Metabolismus von Ifosfamid



IFO wird durch CYP P450 Isonenzyme in der Leber entweder zu 4-OH-IFO oder unter Freisetzung von CAA zu 2-/3-Dechloro-IFO metabolisiert. 4-OH-IFO steht im Gleichgewicht mit seinem Tautomer Aldo-IFO und wird unter Freisetzung von Acrolein zum eigentlich alkylierenden Metaboliten N-Lost-Phosphorsäurediamid giftet.

2. Indikationen für das ICE-Chemotherapieprotokoll

- Nicht operables oder metastasierendes nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom („first oder second line“-Therapie)
- Kleinzelliges Bronchialkarzinom („first oder second line“-Therapie)
- Metastasierendes Mammakarzinom („third line“-Therapie, nach Durchführung von mindestens zwei Standardchemotherapien)
- Metastasierende Weichteilsarkome („second line“-Therapie nach Durchführung mindestens einer Polychemotherapie, die Adriamycin enthält)
- CUP-Syndrom („first line“-Therapie)

3. Grundlagen der Hochdosischemotherapie mit anschließender Blutstammzelltransplantation

Die Intensität der konventionellen Chemotherapie ist insbesondere durch die Hämatotoxizität limitiert. Die Verabreichung dosisintensiver, myeloablativer Therapien (Hochdosischemotherapien) wurde erst durch die nachfolgende Transplantation hämatopoetischer Stammzellen aus dem Knochenmark eines Spenders (allogene Transplantation) oder des Patienten (autologe Transplantation) ermöglicht.

Initial erfolgt die Behandlung mit einer konventionellen Chemotherapie um eine möglichst effektive Tumorkontrolle zu erzielen (konditionierende Induktionschemotherapie). Bei der autologen Transplantation werden den Patienten zur Stammzellmobilisierung aus dem Knochenmark ins periphere Blut hämatopoetische Wachstumsfaktoren (G-CSF= granulocyte colony stimulating factors) verabreicht und die Stammzellen mittels einer Zellseparation abgesammelt. Dann erfolgt die Hochdosischemotherapie mit anschließender Stammzellrückgabe.

Einzelheiten und Indikationen können nicht Thema dieser Dissertationsschrift sein, es wird auf die einschlägige Literatur verwiesen.

IX. LITERATURVERZEICHNIS

1. Alarcon RA. Fluorometric determination of acrolein and related compounds with m-aminophenol. *Anal Chem* 40: 1704-1708, 1968.
2. Aleksa K, Matsell D, Krausz K, Gelboin H, Ito S, Koren G. Cytochrome P450 3A und 2B6 in the developing kidney: implications for ifosfamide nephrotoxicity, *Pediatr Nephrol* 20: 872-885, 2005.
3. Aleksa K, Ito S, Koren G. Renal-tubule metabolism of ifosfamide to the nephrotoxic chloroacetaldehyde: pharmacokinetic modeling for estimation of intracellular levels. *J Lab Clin Med* 143: 159-162, 2004.
4. Baker SD, van Schaik RHN, Rivory LP, ten Tije AJ, Dinh K, Graveland WJ, Schenk PW, Charles KA, Clarke SJ, Carducci MA, McGuire WP, Dawkins F, Gelderblom H, Verweij J, Spareboom A. Factors affecting cytochrome P-450 3A activity in cancer patients, *Clin Cancer Res* 10: 8341-8350, 2004.
5. Berger AM, Clark-Snow RA. Adverse Effects of Treatment. Nausea and Vomiting. In: Vincent T De Vita Jr., Samuel Hellman, Steven A Rosenberg. *Cancer. Principles & Practice of Oncology*. 5th Edition. (53.1): 2705-2713, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1997.
6. Berns JS, Haghghat A, Staddon A, Cohen RM, Schmidt R, Fisher S, Rudnick MR, Tomaszewski JE. Severe, irreversible renal failure after ifosfamide treatment. A clinicopathologic report of two patients. *Cancer* 76: 497-500, 1995.

7. Boddy AV, Yule SM. Metabolism and pharmacokinetics of oxazaphosphorines. *Clin Pharmacokinet* 38: 291-304, 2000.
8. Boddy AV, Proctor M, Simmonds D, Lind MJ, Idle JR. Pharmacokinetics, metabolism and clinical effect of ifosfamide in breast cancer patients. *Eur J Cancer* 31: 69-76, 1995.
9. Bohnenstengel F, Eichelbaum M, Golbs E, Kroemer HK. High-performance liquid chromatographic determination of acrolein as a marker for cyclophosphamide bioactivation in human liver microsomes. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 692: 163-180, 1997.
10. Börner K, Kisro J, Brüggemann SK, Hagenah W, Peters SO, Wagner T. Metabolism of ifosfamide to chloroacetaldehyde contributes to antitumour activity in vivo. *Drug Metab Dispos* 28: 573-576, 2000.
11. Brade WP, Herdrich K, Varini M. Ifosfamide pharmacology, safety and therapeutic potential. *Cancer Treat Rev* 12: 1-47, 1985.
12. Brain EG, YU LJ, Gustafsson K, Drewes P, Waxman DJ. Modulation of P-450-dependent ifosfamide pharmacokinetics: a better understanding of drug activation in vivo. *Br J Cancer* 77: 1768-1776, 1998.
13. Bramwell VH, Mouridsen HT, Santoro A, Blackledge G, Somers R, Verwey J, Dombernowsky P, Onsrud M, Thomas D, Sylvester R, van Oosterom A. Cyclophosphamide versus ifosfamide: final report of randomized phase II trial in adult soft tissue sarcomas. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 23: 311-321, 1987.

14. Brock N, Stekar J, Pohl J, Niemeyer U, Scheffler G. Acrolein, the causative factor of urotoxic side-effects of cyclophosphamide, ifosfamide, trofosfamide and sufosfamide. *Arzneimittelforschung* 29: 659-661, 1979.
15. Brüggemann SK, Kisro J, Wagner T. Ifosfamide cytotoxicity on human tumor and renal cells: role of chloroacetaldehyde in comparison to 4-hydroxyifosfamide. *Cancer Res* 57: 2676-2680, 1997.
16. Brüggemann SK, Radike K, Braasch K, Hinrichs J, Kisro J, Hagenah W, Peters SO, Wagner T. Chloroacetaldehyde: mode of antitumor action of the ifosfamide metabolite. *Cancer Chemother Pharmacol* 57: 349-356, 2006.
17. Brüggemann SK, Schlenke P, Klich S, Deeken M, Peters SO, Wagner T. Stem cell toxicity of oxazaphosphorine metabolites in comparison to their antileukemic activity. *Biochem Pharmacol* 63: 1337-1341, 2002.
18. Cerny A, Küpfer A. Stabilization and quantitative determination of the neurotoxic metabolite chloroacetaldehyde in the plasma of ifosfamide treated patients. *Proceedings in the Fifth European Conference on clinical Oncology* 5, London, 1989: P0147, 1989.
19. Chen CS, Lin JT, Goss KA, He Y, Halpert JR, Waxman DJ. Activation of the anticancer prodrugs cyclophosphamide and ifosfamide: Identification of cytochrome P450 2 B enzymes and site-

- specific mutants with improved enzyme kinetics. *Mol Pharmacol* 65: 1278-1285, 2004.
20. Chang TK, Yu L, Maurel P, Waxman DJ. Enhanced cyclophosphamide and ifosfamide activation in primary human hepatocyte cultures: response to cytochrome P-450 inducers and autoinduction by oxazaphosphorines. *Cancer Res* 57: 1946-1954, 1997.
 21. Chang TK, Weber GF, Crespi CL, Waxman DJ. Differential activation of cyclophosphamide and ifosfamide by cytochrome P450 2B and 3A in liver microsomes. *Cancer Res* 53: 5629-5637, 1993.
 22. Colvin OM. An Overview of Cyclophosphamide Development and Clinical Applications. *Current Pharmaceutical Design* 5: 555-560, 1999.
 23. Cotreau MM, von Moltke LL, Greenblatt DJ. The influence of age and sex on the clearance of cytochrome P450 3A substrates. *Clin Pharmacokinet* 44: 33-60, 2005.
 24. Dechant KL, Brogden RN, Pilkington T, Faulds D. Ifosfamide/mesna. A review of its antineoplastic activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy in cancer. *Drugs* 42: 428-467, 1991.
 25. DiMaggio JR, Brown R, Baile WF, Schapira D. Hallucinations and ifosfamide-induced neurotoxicity. *Cancer* 73: 1509-1514, 1994.

26. Downs LS Jr, Judson PL, Argenta PA, Corson LF, Boente MP. A phase I study of ifosfamide, paclitaxel and carboplatin in advanced or recurrent cervical cancer. *Gynecol Oncol* 95: 347-351, 2004.
27. English MW, Skinner R, Pearson AD, Price L, Wyllie R, Craft AW. The influence of ifosfamide scheduling on acute nephrotoxicity in children. *Br J Cancer* 75: 1356-1359, 1997.
28. Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics: drug disposition, drug targets and side effects. *N Engl J Med* 348: 538-549, 2003.
29. Furlanut M, Franceschi L. Pharmacology of ifosfamide. *Oncology* 65 Suppl 2: 2-6, 2003.
30. Fiegl M, Schlemmer M, Wendtner CM, Abdel-Rahman S, Fahn W, Issels RD. Ifosfamide, carboplatin and etoposide (ICE) as second-line regime, alone and in combination with regional hyperthermia is active in chemo-pre-treated advanced soft tissue sarcoma of adults. *Int J Hyperthermia* 20: 661-670, 2004.
31. Fuhr U, Kittich K, Staib AH. Inhibitory effect of grapefruit juice and its bitter principal naringenin on CYP 1A2 dependent metabolism of coffee in man. *Br J Pharmacol* 35, 1993.
32. George J, Byth K, Farrell GC. Age but not gender selectively affects expression of individual cytochrome P450 proteins in human liver. *Biochem Pharmacol* 50: 727-730, 1995.

33. Glass A, Kloess M, Bentz M, Schlimok G, Bedel WF, Feller A, Trümper L, Loeffler M, Pfreunds Schuh M, Schmitz M. Dose-escalated CHOP plus etoposide (Mega-CHOEP) followed by repeated stem cell transplantation for primary treatment of aggressive high-risk non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 107: 3058-3064, 2006.
34. Goren MP, Wright RK, Pratt CB, Pell FE. Dechloroethylation of ifosfamide and neurotoxicity. *Lancet* 2: 1219-1220, 1986.
35. Granvil CP, Madan A, Sharkawi M, Parkinson A, Wainer IW. Role of CYP2B6 and CYP3A4 in the in vitro N-dechloroethylation of (R) – and (S)- ifosfamide in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 27: 533-541, 1999.
36. Grote T, Hajdenberg J, Cartmell A, Fergusch S, Ginkel A, Charu V. Combination therapy for chemotherapy induced nausea and vomiting in patients receiving emetogenic chemotherapy: polonosetron, dexamethasone and aprepitant. *J Support Oncol* 4: 403-408, 2006.
37. Guengerich FP. Role of cytochrome P450 enzymes in drug-drug interactions. *Adv Pharmacol* 43: 27-35, 1997.
38. Haehner BD, Gorski JC, Vandenbranden M, Wrighton SA, Janardan SK, Watkins PB, Hall SD. Bimodal distribution of renal cytochrome P450 3A activity in humans. *Molecular Pharmacology* 50: 52-59, 1996.
39. Harstrick A, Schmoll HJ, Wilke H, Köhne-Wömpner CH, Stahl M, Schöber C, Casper J, Bruderek L, Schmoll E, Bokemeyer C

Cisplatin, etoposide and ifosfamide salvage therapy for refractory or relapsing germ cell carcinoma. *J Clin Oncol* 9: 1549-1555, 1991.

40. Hauke RJ, Armitage JO. Treatment of non-Hodgkin's lymphoma. *Curr Opin Oncol* 12: 412-418, 2000.
41. Heinzl G, Woloszak R, Thomann P. Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Data Analysis System for the PC. New York, Gustav Fischer Stuttgart Jena, 1993.
42. Hertzberg MS, Crombie C, Benson W, Taper J, Gottlieb D, Bradstock KF. Outpatient fractionated ifosfamide, carboplatin and etoposide as salvage therapy in relapsed and refractory non-Hodgkin's and Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol.* 17 Suppl 4: iv25-30, 2006.
43. Huang Z, Roy P, Waxman DJ. Role of human liver microsomal CYP3A4 and CYP2B6 in catalyzing N-dechloroethylation of cyclophosphamide and ifosfamide. *Biochem Pharmacol* 59: 961-972, 2000.
44. Jao JY, Jusko WJ, Cohen JL. Phenobarbital effects on cyclophosphamide pharmacokinetics in man. *Cancer Res* 32: 2761-2764, 1972.
45. Kaijser GP, Beijnen JH, Bult A, Underberg WJ. Ifosfamide metabolism and pharmacokinetics (review). *Anticancer Res* 14: 517-531, 1994.

46. Kaijser GP, Beijnen JH, Jeunik EL, Bult A, Keizer HJ, de Kraker J, Underberg WJ. Determination of chloroacetaldehyde, a metabolite of oxazaphosphorine cytostatic drugs in plasma. *J Chromatogr.* 614: 253-259, 1993.
47. Kasper B, Gil T, D`Hondt V, Gebhart M, Awada A. Novel treatment strategies of soft tissue sarcoma, *Crit Rev Oncol Hematol*, 2006.
48. Kerbusch T, Jansen RL, Mathot RA, Huitema AD, Jansen M, van Rijswijk RE, Beijnen JH. Modulation of the cytochrome P450-mediated metabolism of ifosfamide by ketoconazole and rifampicin. *Clin Pharmacol Ther* 70: 132-141, 2001.
49. Kerbusch T, Mathot RA, Keizer HJ, Kaijser GP, Schellens JH, Beijnen JH. Influence of dose and infusion duration on pharmacokinetics of ifosfamide and metabolites. *Drug Metab Dispos.* 29: 967-975, 2001.
50. Kivisto KT, Kroemer HK, Eichelbaum M. The role of human cytochrome P450 enzymes in the metabolism of anticancer agents: implications for drug interactions, *Br J Clin Pharmacol* 40, 523- 530, 1995.
51. Kris MG, Hesketh PJ, Somerfield MR, Feyer P, Clark-Snow R, Koeller JM, Morrow GR, Chimery LW, Chesney MJ, Grolle RJ, Grunberg SM. American Society for Clinical Oncology, guideline for antiemetics in oncology: update 2006. *J Clin Oncol* 24: 2932-2947, 2006.

52. Kristensen CA, Kristjansen PEG, Hansen HH. Systemic chemotherapy of brain metastases from small-cell lung cancer: a review. *J Clin Oncol* 10: 1498, 1992.
53. Korfel A, Thiel E. Chemotherapie zerebraler Metastasen solider Tumoren. *Onkologe* 6: 959-965, 2000.
54. Kurowski V, Wagner T. Comparative pharmacokinetics of ifosfamide, 4-hydroxyifosfamide, chloroacetaldehyde and 2- and 3-dechloroethylifosfamide in patients on fractionated intravenous ifosfamide therapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 33: 36-42, 1993.
55. Kurowski V, Wagner T. Urinary excretion of ifosfamide, 4-hydroxyifosfamide, 3- and 2-dechloroethylifosfamide, mesna and dimesna in patients on fractionated intravenous ifosfamide and concomitant mesna therapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 39: 431-439, 1997.
56. Küpfer A, Aeschlimann C, Wermuth B, Cerny T. Prophylaxis and reversal ifosfamide encephalopathy with methylene-blue. *Lancet* 343: 763-764, 1994.
57. Lamba JK, Lin YS, Schuetz EG, Thummel KE. Genetic contribution to variable CYP3A-mediated metabolism. *Adv Drug Deliv Rev* 54: 1271-1294, 2002.
58. Lewis LD. A study of 5 days fractionated ifosfamide pharmacokinetics in consecutive treatment cycles. *Br J Pharmacol* 42: 179-186, 1996.

59. Lewis LD, Meanwell CA. Ifosfamide pharmacokinetics and neurotoxicity. (letter) *Lancet* 335: 175-176, 1990.
60. Lind MJ, McGown AT, Hadfield JA, Thatcher N, Crowther D, Fox BW. The effect of ifosfamide and its metabolites on intracellular glutathione levels in vitro and in vivo. *Biochem Pharmacol* 38: 1835-1840, 1989.
61. Lipp HP, Schuler U. Die menschlichen Cytochrom-P450-Isoenzyme. *Arzneimitteltherapie* 13: 272-280, 1995.
62. Lofters WS, Pater JL, Zee B, Dempsey E, Walde D, Moquin JP, Wilson K, Hoskins P, Guevin RM, Verma S, Navari R, Krook JE, Hainsworth J, Palmer M, Chin C. Phase III double-blind comparison of dolansetron mesylate and ondansetron and an evaluation of the additive role of dexamethasone in the prevention of acute and delayed nausea and vomiting due to moderately emetogenic chemotherapy. *J Clin Oncol* 15: 2966-2973, 1997.
63. Misiura K, Okruszek A, Pankiewicz Z, Stec WJ, Czownicki Z, Utracka B. Stereospecific synthesis of chiral metabolites of ifosfamide and their determination in the urine. *J Med Chem* 26: 674-679, 1983.
64. Moncrieff M, Foot A. Fanconi syndrome after ifosfamide. *Cancer Chemother Pharmacol* 23: 121-122, 1989.
65. Motzer RJ, Mazumdar M, Sheinfeld J, Bajorin DF, Macapinlac HA, Bains M, Reich L, Flombaum C, Mariani T, Tong WP, Bosl GJ.

- Sequential dose-intensive paclitaxel, ifosfamide, carboplatin and etoposide salvage therapy for germ cell tumor patients. *J Clin Oncol* 18: 1173-1180, 2000.
66. Nicolao P, Giometto B. Neurological toxicity of ifosfamide. *Oncology* 65 Suppl 2: 11-16, 2003.
 67. Oettle H, Riess H. Treatment of chemotherapy induced nausea and vomiting. *J Cancer Res Clin Oncol* 127: 340-345, 2001.
 68. Park IS, Lee HJ, Lee YS, Hwang JS, Lee MS. Ifosfamide-induced encephalopathy with or without using methylene blue. *Int J Gynecol Cancer* 15: 807-810, 2005.
 69. Patterson LH, Murray GI. Tumor cytochrome P450 and drug activation, *Curr Pharm Des* 8: 1335-1347, 2002.
 70. Peethambaram PP, Long HJ. Second-line and subsequent therapy for ovarian carcinoma. *Curr Oncol Rep* 4: 159-164, 2002.
 71. Perez EA. Use of dexamethasone with 5-HT₃-receptor antagonists for chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Cancer J Sci Am* 4: 72-77, 1998.
 72. Preiss R, Schmidt R, Baumann F, Hanschmann H, Hauss J, Geissler F, Pahlig H, Ratzewiss B: Measurement of 4-hydroxylation of ifosfamide in human liver microsomes using the estimation of free and proteine-bound acrolein and codetermination of keto – and carboxyifosfamide. *J Cancer Res Clin Oncol* 128: 385-392, 2002.

73. Rieger C, Fiegl M, Tischer J, Ostermann H, Schiel X. Incidence and severity of ifosfamide-induced encephalopathy, *Anticancer Drugs* 15: 347- 350, 2004.
74. Sachs L. *Angewandte Statistik*, 8. Auflage. : 410 ff. Springer Verlag, Berlin, 1997.
75. Sarcev T, Secen N, Povazan DJ, Sabo A, Popovic J, Bursac D, Kakas M, Zaric B, Milovancev A. The influence of dexamethasone in the decrease of chemotherapy-induced nausea and vomiting. *J BUON* 12: 245-252, 2007.
76. Schmidt R, Baumann F, Hanschmann H, Geissler F, Preiss R. Gender difference in ifosfamide metabolism by human liver microsomes. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 26: 193-200,2001.
77. Schuler U, Ehninger G, Wagner T. Repeated high-dose cyclophosphamide administration in bone marrow transplantation: Exposure to activated metabolites. *Cancer Chemother Pharmacol* 20: 248-252, 1987.
78. Simpson L, Ansell SM, Colgan JP, Haberman TM, Inwards DJ, Ristow KM, Johnston PB, Markovic SN, Micallef IN, Porrata LF, Witzig TE. Effectiveness of second line salvage chemotherapy with ifosfamide, carboplatin and etoposide in patients with relapsed diffuse large B-cell lymphoma not responding to cis-platinum, cytosine arabinoside and dexamethasone. *Leuk Lymphoma* 48: 1332-1337, 2007.

79. Skinner R, Sharkey IM, Pearson AD, Craft AW. Ifosfamide, mesna and nephrotoxicity in children. *J Clin Oncol* 11: 173-190, 1993.
80. Sladek NE. Metabolism of oxazaphosphorines. *Pharmacol Ther* 37: 301-355, 1988.
81. Sotaniemi EA, Arranto AJ, Pelkonen O, Pasanen M. Age and cytochrome P450-linked drug metabolism in humans: an analysis of 226 subjects with equal histopathologic conditions. *Clin Pharmacol Ther* 61: 331-339, 1997.
82. Teicher BA. Pharmacology of Cancer Chemotherapy. Antitumor Alkylating Agents. In: Vincent T DeVita Jr., Samuel Hellman, Steven A Rosenberg. *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. 5th Edition. (19.4): 405-418, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1997.
83. Ulrich CM, Robien K, McLeod HL, Cancer pharmacogenetics: polymorphisms, pathways and beyond. *Nat Rev Cancer* 3: 912-920, 2003.
84. Wagner T. Ifosfamide clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 26: 439-456, 1994.
85. Walker D, Flinois JP, Monkman SC, Beloc C, Boddy AV, Cholerton S, Daly AK, Lind MJ, Pearson ADJ, Beaune PH, Idle JR. Identification of the human hepatic cytochrome P450 involved in

- activation and n-dechloroethylation of ifosfamide. *Biochem Pharmacol* 47: 1157-1163, 1997.
86. Wang H, Li M, Rinehart JJ, Zhang R. Dexamethasone as a chemoprotectant in cancer chemotherapy: hematoprotective effects altered pharmacokinetics and tissue distribution of carboplatin and gemcitabine. *Cancer Chemother Pharmacol* 53: 459-467, 2004a.
 87. Wang H, Li M, Rinehart JJ und Zhang R. Pretreatment with dexamethasone increases antitumor activity of carboplatin and gemcitabine in mice bearing human cancer xenografts: in vivo activity, pharmacokinetics and clinical implications for cancer chemotherapy. *Clin Cancer Res* 10: 1633-1644, 2004b.
 88. Wen PY, Loeffler JS. Management of brain metastases. *Oncology* 13: 941- 961, 1999.
 89. Wiedemann GJ, Robins HI, Gutsche S, Mentzel M, Decken M, Katschinski DM, Eleftheriadis S, Crahe R, Weiss C, Storer B, Wagner T. Ifosfamide, Carboplatin and etoposide (ICE) with 41.8 degrees C whole body hyperthermia in patients with refractory sarcoma. *Eur J Cancer* 32: 888-892, 1996.
 90. Wolbold R, Klein K, Burk O. Sex is a major determinant of CYP3A4 expression in human liver. *Hepatology* 38: 978-988, 2003.
 91. Wolff AC, Ettinger DS, Neuberg D, Comis RL, Ruckdeschel JC, Bonomi PD, Johnson DH. Phase II study of ifosfamide, carboplatin, and oral etoposide chemotherapy for extensive-disease small-cell

lung cancer: an Eastern Cooperative Oncology Group pilot study. *J Clin Oncol* 13: 1615-1622, 1995.

92. Xie HJ, Yasar U, Lundgren S. Role of polymorphic CYP 2B6 in cyclophosphamid bioactivation. *Pharmacogenomics J*, 53-61, 2003.
93. Yu L, Waxman DJ. Role of cytochrome P450 in oxazaphosphorine metabolism: Deactivation via N-dechloroethylation and activation via 4-hydroxylation catalysed by distinct subsets of rat liver cytochrome P450. *Drug Metab Dispos* 24: 1254-1262, 1996.
94. Yu LJ, Drewes P, Gustafsson K, Brain EG, Hecht JE, Waxman DJ. In vivo modulation of alternative pathways of P-450-catalyzed cyclophosphamide metabolism: impact on pharmacokinetics and antitumor activity. *J Pharmacol Exp Ther* 288: 928-937, 1999.

X. Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Thomas Wagner, kommissarischer Direktor der Medizinischen Klinik I an der Universität zu Lübeck und Leiter der Abteilung für Hämatologie und Internistische Onkologie, für die interessante Themenstellung und die immer freundliche und überaus geduldige Betreuung und Unterstützung im Verlauf der gesamten Arbeit.

Frau Dr. med. Svenja Brüggemann danke ich für die lebhaftige Diskussion methodischer und inhaltlicher Fragen. Ich möchte mich auch bei allen Stationsärztinnen und -ärzten der hämatoonkologischen Stationen 44b und 44c der Universitätsklinik Lübeck für ihre Hilfestellungen während des klinischen Teils meiner Arbeit bedanken. Darüber hinaus gilt mein Dank den medizinisch-technischen Assistentinnen Heike Albrecht und Monica Vollmert.

Zu guter Letzt danke ich meinen Eltern, Margarete und Wilhelm Pfäffle, denen ich diese Arbeit widmen möchte.

XI. LEBENSLAUF

Sonja Heike Pfäffle

geboren am 2.Mai 1972 in Leonberg

Schulbildung:

1979- 1983	Mörrike-Grundschule in Leonberg
1983- 1992	Albert-Schweitzer-Gymnasium in Leonberg
1992	Allgemeine Hochschulreife

Berufsausbildung:

1992- 1995	Ausbildung zur Krankenschwester am Klinikum der Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg/ Brsg.
1995	Staatsexamen

Studium:

1995	Beginn des Medizinstudiums an der Universität Lübeck
1998	Ärztliche Vorprüfung
1999	Erstes Staatsexamen
2001	Zweites Staatsexamen
Praktisches Jahr	Innere Medizin: Städt. Krankenhaus Süd in Lübeck und Westküstenklinikum in Heide Chirurgie: Hospital Metropolitano in Monterrey/ Mexico Frauenheilkunde und Geburtshilfe: Ostholstein Klinik in Eutin und Hospital Metropolitano in Monterrey/ Mexico

2003

Drittes Staatsexamen

Ärztliche Tätigkeit:

9/2003- 9/2004

Ärztin im Praktikum im Mammazentrum (CÄ Doris Augustin) und in der Frauenklinik (CA Dr. med. Ronaldo Stuth) des Klinikum Deggendorf

10/2004- 11/2005

Assistenzärztin im Mammazentrum und in der Frauenklinik des Klinikum Deggendorf

seit 12/2005

Assistenzärztin im Zentrum für Innere Medizin, Klinik für Hämatologie und Internistische Onkologie Klinikum Stuttgart/ Katharinenhospital (ÄD Prof. Dr. med. Hans-Günther Mergenthaler)