

Bedeutung der Chronopharmakologie für die Onkologie

M. Hallek^a, F. Lévi^b, E. Haen^c, B. Emmerich^a

^aMedizinische Klinik Innenstadt der Universität München

^bUA CNRS 581 «Chronobiologie-Chronopharmacologie», Institut du Cancer et d'Immunogénétique (Centre Claude-Bernard),
Groupe Hospitalier Paul-Brousse, Villejuif, Frankreich

^cWalther-Straub-Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität München

Zusammenfassung und Schlüsselwörter

Viele in der Hämato-Onkologie bedeutsame Variablen, wie die Organfunktionen von Leber und Niere und die Hämatopoiese, unterliegen zirkadianen Schwankungen. Folglich weisen sowohl der Metabolismus und die Elimination von Zytostatika als auch ihre Myelotoxizität tageszeitliche Schwankungen auf. Dies wurde zunächst tierexperimentell, mittlerweile aber auch an Tumorpatienten nachgewiesen. Erste klinische Studien zeigen darüber hinaus, daß wahrscheinlich auch die Wirksamkeit der Chemotherapie durch ein optimales tageszeitliches Timing deutlich verbessert werden kann. In jüngster Zeit schuf die Entwicklung programmierbarer Infusionspumpen die technischen Voraussetzungen für die zeitgerechte und pünktliche Applikation von Zytostatika. Somit scheint nun der Durchführung kontrollierter klinischer Studien zur (tages-)zeitlichen Optimierung der Chemotherapie nichts mehr im Wege zu stehen.

Chronopharmakologie – Chronotherapie – Zytostatika – Zirkadian – Toxizität

Summary and Key Words

Many physiological variables in hemato-oncology, e.g. the function of liver and kidney and hematopoiesis, show circadian changes. Consequently, the metabolism, elimination and myelotoxicity of cytostatic drugs are subjected to circadian variations in animal and man. Moreover, preliminary clinical data suggest that an optimal circadian timing may even increase the efficacy of anticancer chemotherapy. The recent development of programable infusion pumps provided a reliable tool for the application of cytostatic drugs at any time of day. As a consequence, controlled clinical trials on the temporal optimization of anticancer chemotherapy seem now to be necessary and feasible.

Chronopharmacology – Chronotherapy – Cytostatic drugs – Circadian – Toxicity

Die Chronobiologie ist eine vergleichsweise junge Wissenschaft, die zeitliche Phänomene der belebten Natur erforscht. Sie darf nicht mit dem populärwissenschaftlich verbreiteten Konzept der «Biorhythmik» verwechselt werden. Obwohl biologische Rhythmen bereits im Altertum beobachtet wurden, begann ihre systematische wissenschaftliche Erforschung erst in diesem Jahrhundert. Mittlerweile konnten einige fundamentale Eigenschaften biologischer Rhythmen aufgeklärt werden:

1. Sie persistieren in Abwesenheit von Zeitinformation, was an Freiwilligen in Höhlenversuchen oder isolierten unterirdischen Kammern gezeigt werden konnte [4, 5, 30, 32, 67]. Unter solchen («Freilauf»-)Bedingungen beträgt die Tagesperiodik vieler physiologischer Variablen nicht mehr genau 24 h, sondern sie schwankt im Bereich von 23 bis 25 h. Daher nennt man solche Rhythmen auch *zirkadian* (lat.: etwa ein Tag) [29].
2. Die genetische Determiniertheit biologischer Rhythmen wurde zunächst bei Pflanzen und Tieren nachgewiesen [2, 8, 13, 45]. Sie besitzt wohl auch für den Menschen Gültigkeit, wie Ergebnisse aus der Zwillingforschung zeigen [7, 71].
3. Die eigentlichen «biologischen Uhren» werden *Oszillatoren* (syn.: Schrittmacher) genannt. Ein anatomisches Korrelat solcher Oszillatoren ist z. B. der Nucleus suprachiasmaticus.
4. Die Oszillatoren werden durch entsprechende *Zeitgeber* mit den Umweltbedingungen synchronisiert. Sie bewirken auf diese Weise, daß rhythmische Phänomene nicht nur ungefähr, sondern genau mit den 24 h eines Tages übereinstimmen. Für den Menschen sind wahrscheinlich sozio-kulturelle Phänomene die wichtigsten Zeitgeber, aber auch das Tageslicht spielt eine wichtige Rolle [3].

5. Die Zeitstruktur eines Organismus ist spezifisch sowohl für eine Spezies (tag- und nachtaktive Lebewesen) als auch für einzelne Individuen (z. B. Früh- und Spätaufsteher).

Zirkadiane Variationen einiger in der Hämato-Onkologie wichtiger physiologischer Variablen

Zirkadiane, aber teilweise auch zirkaseptane (= Wochen-) und zirkannuale (= Jahres-)Rhythmen wurden für fast alle hämatologischen und immunologischen Variablen bei Mensch und Tier beschrieben [36, 37].

Alle korpuskulären Bestandteile des Blutes (Leukozyten, Lymphozyten und deren Subpopulationen, Monozyten, Thrombozyten) weisen statistisch signifikante zirkadiane Schwankungen auf, wie in einer Studie an 150 gesunden Erwachsenen (71 weiblich, 79 männlich) gezeigt werden konnte [36]. Die zirkadianen Rhythmen der verschiedenen hämatologischen und immunologischen Parameter werden durch den individuellen Tagesablauf des Menschen synchronisiert. So verschieben sich die Phasen der einzelnen Rhythmen bei Nachtschichtarbeitern entsprechend dem tageszeitlichen Mittelpunkt der beruflichen Aktivität [36].

Die Zahl und Funktion lymphatischer Zellen im peripheren Blut unterliegt deutlichen zirkadianen Schwankungen (siehe Tabelle 1). Auch das Auftreten unreifer Lymphozyten (ALL-Antigen positiver Zellen) im peripheren Blut gesunder Erwachsener weist deutliche zirkadiane Schwankungen auf [17]. Diese Zellen werden nachts in mehrfach höherer Zahl im peripheren Blut gefunden als tagsüber.

Die *Hämatopoiese* ist ebenfalls zeitlich strukturiert. Zirkadiane

Table 1. Zirkadiane Zeitstruktur der zirkulierenden Lymphozyten beim Menschen

Variable	n	p ¹	Tagesmaximum bzw. Ø ¹ ± S.E. (h, min)	Amplitude A ¹ ± S.E. (Zellen/mm ³)	Mesor M ¹ ± S.E. (Zellen/mm ³)	Referenz
Mononukleäre Zellen	4		24,00			[1]
Gesamtlymphozyten	150	<0,001	0,02 ± 0,02	483 ± 67	2784 ± 1265	[36]
Gesamtlymphozyten	6		24,00			[85]
Gesamtlymphozyten	5	<0,001	1,4	40 % ³		[52]
T-Lymphozyten (CD3)	5	<0,001	1,2	56 % ³		[52]
T-Lymphozyten (CD3)	10	<0,05	22,22	430	1600	[74]
T-Helfer-Zellen (CD4)	10	<0,05	22,32	340	1170	[74]
T-Suppressor-Zellen (CD8)	8		12,00 und 17,00			[62]
T-Suppressor-Zellen (CD8)	10	<0,05	21,56	100	430	[74]
NK-Zellen ²	10	<0,05	11,15	2,8	11,0	[74]
B-Lymphozyten (HLA-DR)	10	<0,05	23,05	90	350	[74]
B-Lymphozyten (SIg)	4		24,00			[1]
B-Lymphozyten (SIg)	5	<0,03	20,00	42 % ³		[52]
B-Lymphozyten (lambda)	5	<0,06	20,40	54 % ³		[52]
cALLA-positive Zellen (CD10)	5	<0,05	2,20 ± 3,00	95 % ³	460 ± 110	[17]
PHA-Antwort	6		8,00			[85]

¹ Parameter aus der *Csinor*-Analyse [31], welche die am besten an die Rohdaten angepaßte Sinus-Kurve errechnet. Dabei erhält man folgende Parameter: Ø = Acrophase = Zeit des errechneten Maximums; M = Mesor oder Mittelwert und A = Amplitude der errechneten Sinusoidalen.
² % der Gesamtlymphozyten. ³ % des Mesor.

diane Rhythmen der DNS-Synthese oder mitotischen Aktivität von Zellen der Erythro- und Granulopoiese wurden mehrfach bei Nagern beobachtet [20, 33, 44, 65, 76, 77, 80, 81]. Schon 1965 beschrieb Mauer zirkadiane Schwankungen der granulopoietischen Proliferation im menschlichen Knochenmark (ermittelt anhand der Aufnahme von ³H-Thymidin) [61]. Ihr Maximum lag in den Morgenstunden, ihr Minimum um Mitternacht. Ross und Mitarbeiter [75] untersuchten bei gesunden Erwachsenen Stammzellen der Granulopoiese im peripheren Blut. Sie benutzten dazu den Zell-Kolonie-Assay, der die Fähigkeit myeloischer Stammzellen ausnutzt, in halb-festen Nährmedien bestimmte Kolonien («colony forming units»; CFU) zu bilden. Die höchste Zahl von CFU fand sich um 09.00 h. Eine genauere Analyse zeigte, daß vor allem die Anzahl der eosinophilen Vorläuferzellen (CFU_{EO}) eine deutliche zirkadiane Rhythmik zeigte (Maximum 09.00 h, Minimum 15.00 h). Die Zahl der neutrophilen Vorläuferzellen (CFU_{GM}) hatte eine weniger ausgeprägte, statistisch nicht signifikante Tagesschwankung (Maximum 09.00 h, Minimum 21.00 h). Neben der zirkadianen Variation der korpuskulären Blutbestandteile spielen auch andere Faktoren eine wichtige Rolle für die Chronotoxizität von Zytostatika. Seit langem sind zirkadiane Änderungen der Nieren- und Leberfunktion und des Endokriniums bekannt, die ihrerseits den Metabolismus und die Elimination von Medikamenten beeinflussen [9, 68–70]. Nur für wenige Zytostatika wurden die daraus resultierenden, zeitlichen Änderungen der Pharmakokinetik («Chronopharmakokinetik») genauer untersucht. Gibt man 5-Fluorouracil (5-FU) als konstante Dauerinfusion über 4 Tage, kommt es zu erheblichen Tagesschwankungen der 5-FU-Plasmaspiegel mit einer Amplitude von 50% des Tagesmittelwertes [4]. Maximale 5-FU-Plasmaspiegel werden um 01.00 h erreicht. 5-FU wird vorwiegend hepatisch metabolisiert [22]. Entsprechend führt die kontinuierliche Leberperfusion von 5-FU zu

einer hohen hepatischen Extraktion dieser Substanz [10, 88]. Es liegt somit nahe, daß zirkadiane Schwankungen der Leberelimination eine Ursache für die zirkadiane Periodik der 5-FU-Plasmaspiegel sind. Für die Aktivitäten vieler Leberenzyme konnten zirkadiane Rhythmen nachgewiesen werden [9, 25, 66]. Möglicherweise gilt dies auch für die Dehydrouracil-Dehydrogenase, die 5-FU zu Dihydro-Fluorouracil (FUH₂) umwandelt [63]. Die renale Elimination vieler Medikamente ist zirkadian strukturiert. Daß dies auch für Zytostatika gelten kann, belegt das Beispiel des Cisplatin. Die Chronotoxizität dieser Substanz ist eng an zirkadiane Änderungen der Nierenfunktion gekoppelt [49]. Cisplatin ist in der zweiten Hälfte der Aktivitätsphase, zum Zeitpunkt der stärksten Diurese, am wenigsten toxisch. Auf die Mechanismen dieses Phänomens wird weiter unten eingegangen.

Chronotoxizität: experimentelle Grundlagen

In den letzten Jahren wurden zahlreiche Untersuchungen über die Chronotoxizität von Zytostatika bei Nagern durchgeführt, um entsprechende Basisdaten für die zeitgerechte Applikation dieser Medikamente in der Humanmedizin zu erhalten (Über-sichten bei [39, 54, 56, 57]). Sehr viele Untersuchungen basie-ren auf Letalitätsstudien nach Verabreichung der Zytostatika in gleicher Dosis zu verschiedener Tageszeit. Einige neuere Studien untersuchten zusätzlich die toxischen Wirkungen auf die einzelnen Organsysteme in Abhängigkeit von der Tageszeit. Die meisten Untersuchungen wurden an Mäusen durch-geführt. Um die Zeitangaben solcher Experimente zu verein-heitlichen, wurde das von der Ortszeit unabhängige Zeitmaß der «Hours After Light On» (HALO; Stunden nach Einschalten der Lichtquelle) eingeführt. Die Versuchstiere werden durch einen standardisierten Licht-Dunkel-Wechsel (LD) syn-chronisiert. In den meisten Experimenten erfolgt dieser in Intervallen von 12 h (LD = 12 h:12 h).

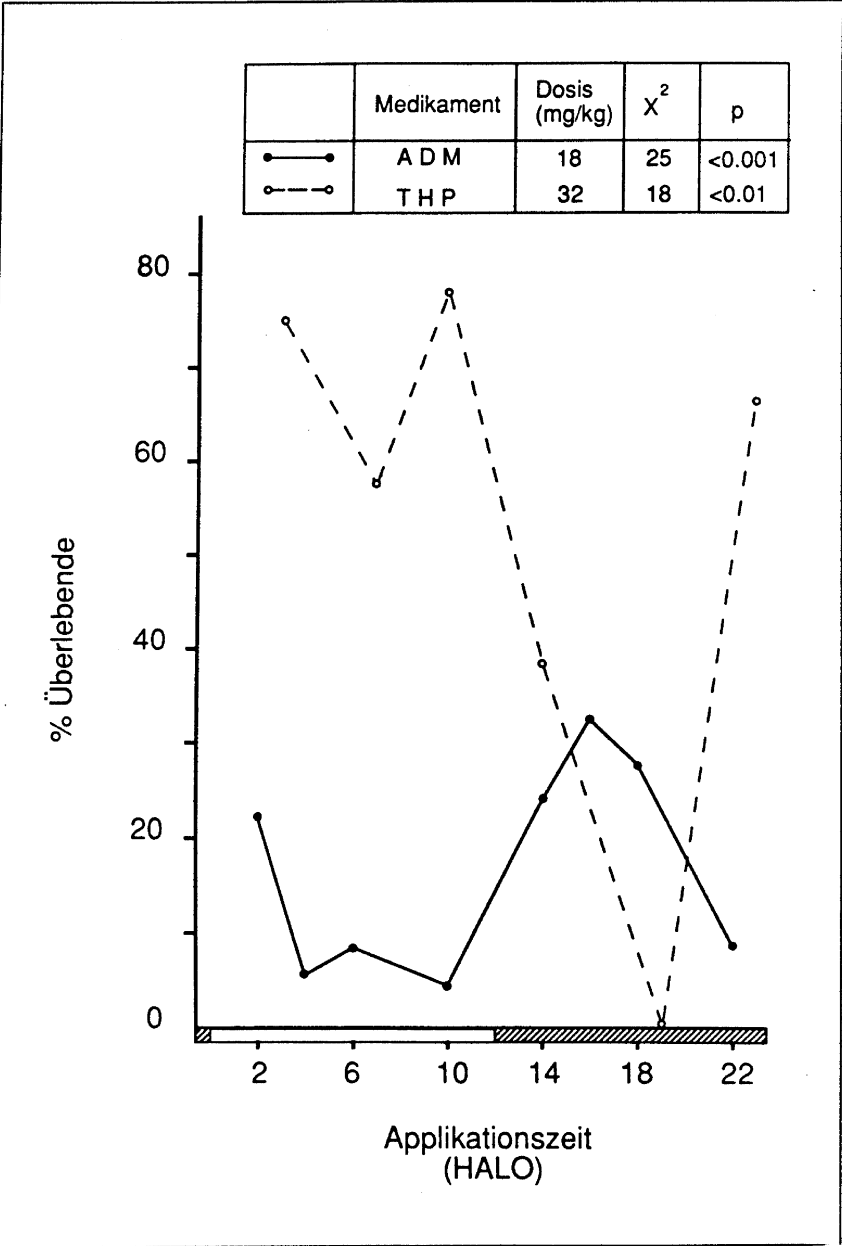


Abb. 1. Zirkadianer Rhythmus der Toxizität von zwei Anthrazyklinen, Adriamycin (ADM) und 4'-Tetrahydropyranyladriamycin (THP), bei Mäusen. Beide Medikamente wurden als einzelne, intravenöse Injektion zu jeder der 6 verschiedenen Tageszeiten gegeben. Der Prüfparameter war der Anteil der überlebenden Versuchstiere. ADM (18 mg/kg) wurde insgesamt 263 CDF1-Mäusen im Alter von 11 bis 24 Wochen injiziert, THP (32 mg/kg) 70 B6D2F1-Mäusen im Alter von 12–15 Wochen. Die Untersuchungen zeigten unterschiedliche Toxizitäts-Zielorgane der beiden Substanzen: ADM wirkte hauptsächlich kardiotoxisch, THP dagegen myelotoxisch (Ergebnisse hier nicht gezeigt). Dieser Unterschied erklärt wahrscheinlich die verschiedenen zirkadianen Toxizitätsprofile der beiden Zytostatika. Modifiziert nach [54].

Anthrazykline

Untersuchungen zur zirkadianen Chronotoxizität wurden bisher für Adriamycin (ADM), Daunorubicin (DNR), 4'-Epi-Doxorubicin (EPI) und 4'-o-Tetrahydropyranyladriamycin (THP) durchgeführt. Schon 1973 berichteten Kühl et al. [47] über einen zirkadianen Rhythmus der Toxizität intraperitonealer ADM-Injektionen bei Mäusen und Ratten. Die Abbildung 1 zeigt die tageszeitliche Variation der Toxizität zweier verschiedener Anthrazyklin-Derivate bei Mäusen. Eine gleich hohe Gabe von ADM (18 mg/kg i.v.) war zur einen Tageszeit (18 HALO) zu 100 % letal, zu anderen (2 und 10 HALO) nur zu ca. 25 %. Der Unterschied war statistisch signifikant. Beim THP waren die zirkadianen Schwankungen

der therapiebedingten Letalität geringer (etwa 65–95 %). Die Unterschiede zwischen THP und ADM hinsichtlich ihrer tageszeitlichen Toxizität beruhen wahrscheinlich auf ihrer unterschiedlichen Organtoxizität. Beim ADM überwog die Kardiotoxizität, beim THP die Myelotoxizität [24, 50, 51, 84]. Von diesem unterschiedlichen Toxizitätsprofil hängt auch die Tageszeit der maximalen Letalität ab; denn in den gleichen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß bestimmte Organe (Herz, Knochenmark) zu verschiedenen Tageszeiten unterschiedlich geschädigt werden (zirkadiane Organ-Empfindlichkeit). Für zwei weitere Anthrazykline, DNR und EPI, war die Toleranz zu Beginn der Ruhephase (kurz nach Einschalten des Lichts) optimal [19, 48, 82]. Dies verdeutlicht, daß selbst chemisch verwandte Analoga aus einer Substanzklasse deutliche Unterschiede ihrer zirkadianen Chronotoxizität aufweisen.

Platinverbindungen

Cisplatin ist der bekannteste Vertreter dieser Substanzklasse. Bei Nagern sind tageszeitliche Änderungen der Toxizität für Cisplatin, Carboplatin und Oxaliplatin belegt. Die optimale Applikationszeit bei Ratten und Mäusen lag in der Dunkel- bzw. Aktivitätsphase, unabhängig von Applikationsweg und Geschlecht [11, 38, 49]. Die renale Chronotoleranz für Cisplatin wurde von Lévi und Mitarbeitern genauer untersucht [49]. Cisplatin verursacht Nekrosen der proximalen Tubulus-Zellen des Nephrons. Dies führt zur Polyurie, zum Anstieg des Serumharnstoffs und zur Zunahme der Ausscheidung der β -N-Acetylglucosaminidase (β -NAG). Dieses lysosomale Enzym wird physiologischerweise von den Zellen des proximalen Tubulus freigesetzt und läßt sich im Urin nachweisen. Diese Freisetzung weist tageszeitliche Schwankungen auf [49]. Cisplatin ist zur Zeit der höchsten physiologischen β -NAG-Freisetzung am toxischsten. Hingegen ist die Cisplatin-Toxizität dann am geringsten, wenn seine renale Elimination das Tagesmaximum erreicht (in der Aktivitätsphase, ca. 18 HALO). Die tageszeitlichen Unterschiede der Toxizität sind beträchtlich: die Niere toleriert Cisplatin etwa drei- bis fünfmal besser, wenn es in der Dunkel- bzw. Aktivitätsphase appliziert wird. Dies belegen alle Prüfparameter (Serumharnstoff, Diuresevolumen, β -NAG-Aktivität im Urin). Interessanterweise zeigen auch andere Schwermetalle [16] und Methotrexat [21] ein ähnliches Verhalten. Das weniger nierentoxische Carboplatin weist um 16 HALO die geringste Schleimhaut- und Myelotoxizität auf [11]. Nach einer Dosis von 80 mg/kg/Tag Carboplatin überlebte um 23 HALO keines der Versuchstiere, um 16 HALO jedoch 58 %.

Andere Verbindungen

Ähnliche Tagesschwankungen der Toxizität konnten auch für alkylierende Verbindungen wie Melphalan, Cyclophosphamid und Ifosphamid, Antimetaboliten wie 5-FU, Methotrexat oder Cytosin-Arabinosid (Ara-C) und pflanzliche Alkaloide wie Vincristin, Vinblastin und Etoposid (VP 16) gesichert werden.

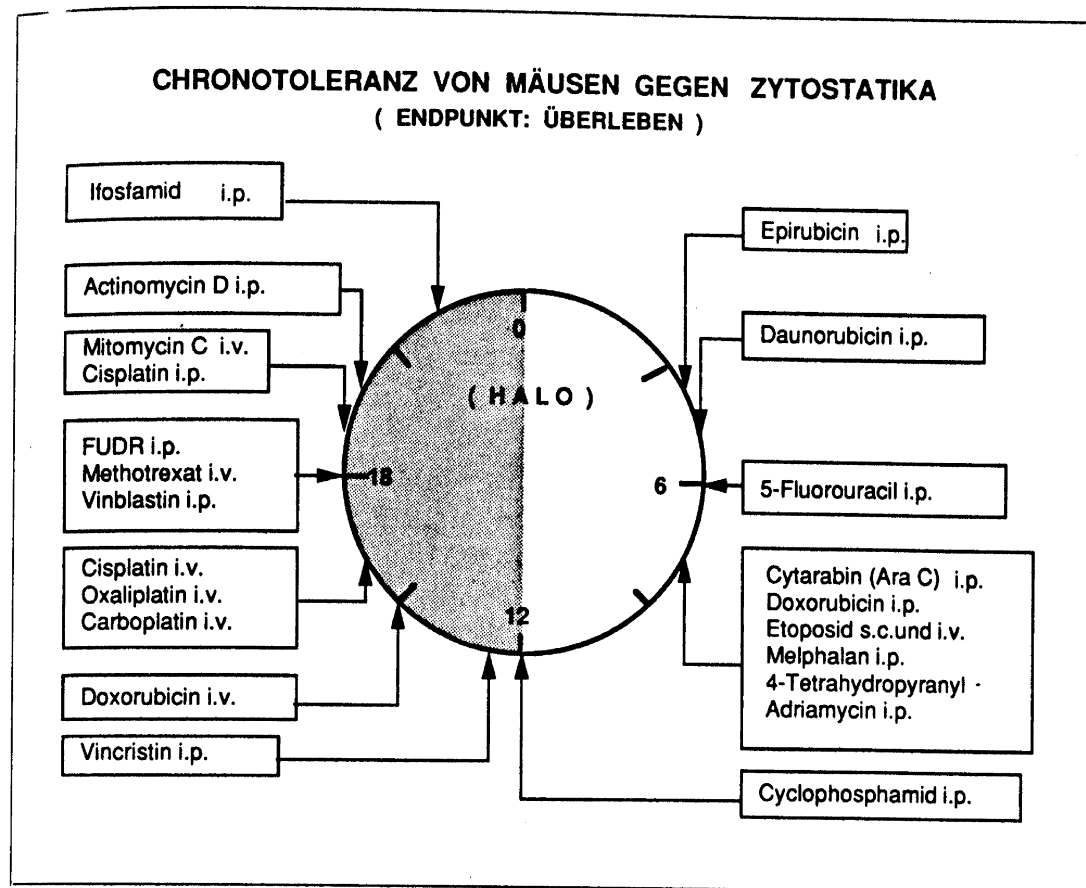


Abb. 2. Tageszeiten der optimalen Verträglichkeit verschiedener Zytostatika bei Mäusen. Die Ergebnisse stammen aus Toxizitäts-Untersuchungen, in denen der Anteil überlebender Versuchstiere nach Applikation des Medikaments der entscheidende Prüfparameter war (= Endpunkt: Überleben). Die einzelnen Zytostatika wurden immer in jeweils gleicher Applikationsart und Dosis verabreicht, lediglich die Tageszeit der Applikation wurde variiert. Die Zeit ist in der für solche Untersuchungen gebräuchlichen Einheit HALO (= «hours after light on»; Stunden nach Einschalten des künstlichen Lichts) angegeben. Da Mäuse nachtaktive Lebewesen sind, entspricht die grauschraffierte Hälfte der Aktivitätsphase der Tiere. Zur Veranschaulichung kann folgende Regel als sehr *grober* Anhaltspunkt gelten: 12 HALO (Mäuse) = 08.00 h (Mensch); 0 HALO (Mäuse) = 20.00 h (Mensch). Dabei wird ein regelmäßiger, menschlicher Schlaf-Wach-Zyklus (von ca. 22.00–06.00 h) angenommen. Modifiziert nach [56].

(Übersichten bei 54, 56; siehe Abb. 2). Aber auch die Nebenwirkungen der Strahlentherapie zeigen deutliche zirkadiane Schwankungen [23].

«Chrono-Effektivität»: experimentelle Grundlagen

Der Nachweis der zirkadianen Chronotoxizität von Zytostatika führt unweigerlich zur Frage nach zeitlichen Änderungen ihrer Wirksamkeit («Chrono-Effektivität»). Um dieser Fragestellung nachzugehen, bestimmte Burns [14] die DNS-Synthese-Aktivität verschiedener Gewebe der Maus anhand der Inkorporation von ^3H -Thymidin zu verschiedenen Tageszeiten. Er fand erhebliche zirkadiane Schwankungen der DNS-Synthese-Aktivität im Knochenmark, in der Milz und in der Mucosa des Verdauungstraktes (Zunge, Magen, Ileum, Rektum). Später untersuchte er bei Mäusen mit Ehrlich-Ascites-Karzinom den Einfluß der Applikation von 10 mg/kg Adria-

mycin (i.p.) auf diese Organe und auf die Karzinom-Zellen zu zwei verschiedenen Tageszeiten (05.00 und 17.00 h) [15]. Adriamycin beeinträchtigte die DNS-Synthese der normalen Organe um 05.00 h erheblich mehr als um 17.00 h. Die DNS-Synthese der Karzinom-Zellen wurde dagegen durch ADM zu beiden Tageszeiten in gleichem Umfang gehemmt. Diese Untersuchung ist ein Beispiel für die Möglichkeit, die zeitliche Entkopplung (Desynchronisation) des Tumorzell-Wachstums vom Wirtsorganismus für die Optimierung der Chemotherapie zu nutzen.

Als Maß für den Therapie-Erfolg ist jedoch die Verbesserung der Remissionsraten und der Überlebenszeiten der entscheidende Parameter. Die Tabelle 2 faßt die bisherigen Untersuchungen am Tiermodell über die Abhängigkeit des Therapie-Erfolgs von der Tageszeit zusammen. Die tageszeitliche Optimierung vermochte in diesen Studien die Tumorrückbildung, die Remissionsraten und letztlich das Überleben signifikant zu verbessern. In einer kürzlich veröffentlichten Studie

Tabelle 2. Effekt einiger Zytostatika gegen Tumoren im Tiermodell

Substanz	Tumor-Modell	Optimale Zeit (HALO)	Parameter für Wirksamkeit	Effekt durch Applikations-Zeit	Referenz
Cyclophosphamid	Mamma-Karzinom	8	Tumorrückbildung	erheblich	[6]
Cyclophosphamid	T9-, T10-Sarkom	2	Heilungsrate	13, 14 %	[26]
Cyclophosphamid	L1210-Leukämie	12	Heilungsrate	27 %	[18]
Cytarabinsid plus Cyclophosphamid ¹	L1210-Leukämie	10	Heilungsrate	20–50 %	[79]
Cytarabinsid	L1210-Leukämie	8	Heilungsrate	18 %	[35]
Melphalan plus Adriamycin ¹	13762-Mamma-Karzinom	10	Rate kompletter Remissionen	38 %	[34]
Cisplatin plus Adriamycin ¹	Plasmozytom	18	Überleben	30 %	[83]

Alle Untersuchungen wurden an Mäusen oder Ratten durchgeführt.

¹ In diesen Zytostatika-Kombinationen wurde die jeweils zuletzt genannte Substanz zur optimalen Tageszeit gegeben, die erstgenannte randomisiert zu verschiedenen Zeitpunkten.

an einem Mäuse-Plasmozytom-Modell konnte die Überlebensrate durch zeitliche Optimierung der Chemotherapie fast verdoppelt werden (von 31 auf 61%) [83]. Die optimalen Applikationszeiten dieser Therapie-Kombination aus Cisplatin und ADM waren um 10 HALO (ADM) und 18 HALO (Cisplatin). Diese Optimierung entspräche beim Menschen ungefähr den Tageszeiten 06.00 h (ADM) und 14.00 h (Cisplatin), wobei ein regelmäßiger Schlaf-Wach-Zyklus mit einer Ruheperiode von ca. 22.00 h bis 06.00 h angenommen wird.

Chrono-Chemotherapie: klinische Ergebnisse

Die Bedeutung der Tageszeit für die Toxizität von Zytostatika wurde in mehreren klinischen Studien nachgewiesen. Tageszeitliche Änderungen der Toxizität sind für Chemotherapie-Schemata mit ADM und Cisplatin [40], THP und Cisplatin [53, 55, 58], Etoposid und Cisplatin [28, 46], FUDR [41, 42, 86, 87] und 5-FU [59] belegt.

Lévi et al. [55, 58] führten bei 24 Patienten mit fortgeschrittenem Ovarial-Karzinom eine Kombinationstherapie aus THP (50 mg/m², an einem Tag) und Cisplatin (100 mg/m², an einem Tag) durch (Wiederholung nach 3–4 Wochen). Insgesamt konnten 48 Zyklen ohne Dosis-Modifikation durchgeführt werden. Im *Therapie-Schema A* wurden THP um 0600 h und Cisplatin zwischen 16.00 und 20.00 h appliziert, im *Therapie-Schema B* THP um 1800 h und Cisplatin zwischen 04.00 und 08.00 h. In Schema A kam es in 33% der Fälle zu einer Granulozytopenie (WHO-Grad III–IV), in 21% zu einer Thrombozytopenie (WHO-Grad I–IV) und in 9% zu einer Anämie (WHO-Grad III–IV). In Schema B waren diese Nebenwirkungen mit 61%, 41% und 28% statistisch signifikant ($p < 0,05$) häufiger [55, 58].

In einer amerikanischen Studie [42, 87] wurden 25 Patienten mit metastasiertem Nieren-Karzinom mit einer 14tätigen intravenösen Dauerinfusion von 5-Fluoro-2-deoxyuridin (FUDR; Dosis 0,15 mg/kg/Tag; Wiederholung nach einem Monat mit einer Dosissteigerung von 0,025 mg/kg/Tag bei guter Verträglichkeit) behandelt. 44% dieser Patienten waren davor bereits erfolglos mit Chemotherapie behandelt worden. Die Besonderheit dieser Studie war, daß die ersten 10 Patienten randomisiert entweder mit einer konstanten Dauerinfusion (Standard-Schema) oder mit einem tageszeitlich optimierten Infusions-Schema (Chronotherapie-Schema) behandelt wurden. Die Gesamt-Tagesdosis war in beiden Gruppen identisch. Im Chronotherapie-Schema wurde FUDR wie folgt appliziert: 15% der Gesamt-Tagesdosis zwischen 09.00 und 15.00 h, 68% zwischen 15.00 und 21.00 h, 15% zwischen 21.00 und 03.00 h, und 2% zwischen 03.00 und 09.00 h. Im Standard-Schema wurde keine Änderung der Infusionsrate vorgenommen. Das Chronotherapie-Schema war der konstanten Dauerinfusion deutlich überlegen. Nur in 10% der Fälle (gegenüber 25%) waren Therapieaufschübe notwendig, und nur in 7% (gegenüber 50%) Dosisreduktionen. Zusätzlich konnte in der Chronotherapie-Gruppe die FUDR-Dosis im Durchschnitt deutlich gesteigert werden, während sie im Standard-Schema gesenkt werden mußte. Die Nebenwirkungen (Nausea, Erbrechen, Diarrhoe) waren ebenfalls mit dem Chronotherapie-Schema geringer (siehe Tab. 3). Nachdem diese Er-

gebnisse statistisch signifikant zugunsten des Chronotherapie-Schemas ausgefallen waren, wurden alle weiteren Patienten mit der zirkadian-optimierten Therapie behandelt. Bei 24 auswertbaren Patienten wurden 2 komplette und 7 partielle Remissionen erzielt (Remissionsrate 37,5%). Die Behandlung war somit effektiv.

Lévi et al. behandelten 35 Patienten mit metastasierten, großteils vorbehandelten kolorektalen Karzinomen mit 5-FU. Die Tagesdosis wurde nach einer sinusoidalen Funktion mit einer Periode von 24 h über den Tag verteilt appliziert [59]. Die 5-FU-Infusionsrate wurde dabei von 0% des 24 h-Mittelwertes um 16.00 h bis zu 200% um 04.00 h morgens mittels seiner programmierbaren Infusionspumpe variiert. Die Gesamtdosis pro Zyklus betrug anfänglich 4 g/m² (Zyklusdauer 5 Tage, Wiederholung alle 3 Wochen, bei guter Verträglichkeit Dosissteigerung um 1 g/m² pro Zyklus). Die Therapie wurde erstaunlich gut toleriert. Normalerweise dosislimitierende Nebenwirkungen (Stomatitis, Diarrhoe, Neutropenie, Anämie; WHO-Grad > II) traten in weniger als 10% der Fälle auf. Die maximal tolerierte 5-FU-Dosis bei Patienten in guter körperlicher Verfassung (WHO-Performance-Status 0–1) betrug im Median 8 g/m². Von 34 auswertbaren Patienten hatten 10 partielle Remissionen (29%) und 15% (44%) eine Stabilisierung der Erkrankung. Die mediane Überlebenszeit überschritt 20 Monate. Diese Remissionsrate liegt höher als in den meisten vergleichbaren Studien. Einschränkend muß man allerdings anfügen, daß die Studie nicht randomisiert durchgeführt wurde.

Nicht nur die Verringerung der Toxizität, sondern auch eine verbesserte Wirksamkeit konnte durch tageszeitliche Optimierung der Chemotherapie-Applikation erreicht werden [27, 73]. Rivard et al. behandelten in einer prospektiven, nicht randomisierten Studie 118 Kinder mit akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL) nach Erreichen der Vollremission mit einer Erhaltungstherapie (6-Mercaptopurin p.o. (6-MP) täglich, Methotrexat i.v. (MTX) wöchentlich sowie Vincristin und Prednison monatlich). Die Dosis wurde so bemessen, daß die Leukozyten-Zahlen stets zwischen 3000 und 4000/µl lagen. Dabei war es den Patienten bzw. deren Eltern überlassen, die Tageszeit der Applikation von MTX und 6-MP zu wählen: entweder vor 10.00 h morgens oder nach 17.00 h abends. Die Tageszeit blieb dann während der gesamten weiteren Behandlung unverändert. Die Auswertung zeigte, daß nach Stratifikation hinsichtlich anderer Risikofaktoren (Alter, Geschlecht, Leukozytenzahlen zum Zeitpunkt der Diagnose) unter der morgendlichen Applikation von MTX und 6-MP ein 4,6fach höheres Rezidiv-Risiko bestand als unter der abendlichen Applikation.

Eine noch unveröffentlichte Zwischenauswertung einer randomisierten Studie bei Patienten mit nicht-kleinzelligem Bronchial-Karzinom, die mit Cisplatin (18.00 h) und Etoposid (06.00 h versus 18.00 h) behandelt wurden, ergab für die morgendliche Etoposid-Gabe einen deutlichen Vorteil in der Ansprechrate gegenüber der abendlichen Gabe (61% versus 28%) [28].

Diese vorläufigen Resultate aus großteils nicht-kontrollierten Studien sind zwar sehr vielversprechend, sie müssen jedoch mit Zurückhaltung interpretiert werden. Weitere kontrollierte, prospektive Studien sind erforderlich, um den klinischen Nutzen der Chrono-Chemotherapie zu erhärten.

Tabelle 3. Klinische Studien zur Chrono-Chemotherapie maligner Tumoren

Tumor	Anzahl der Patienten	Medikament	Zeitpunkt der optimalen (A) vs. schlechtesten (B) Toleranz:			Art der Studie	Ergebnis	Referenz
			A	vs.	B			
Metastasiertes Ovarial-Karzinom	31	Adriamycin Cisplatin	06.00 h 18.00 h	vs. vs.	18.00 h 06.00 h	r	Dosisreduktionen: A: 13 %; B: 48 %; Komplikationen: A: 23 %; B: 44 %	[40]
Metastasiertes Ovarial-Karzinom	28	THP Cisplatin	06.00 h 16.00–20.00 h	vs. vs.	18.00 h 04.00–08.00 h	p	Granulozytopenie: A: 33 %; B: 61 %; Thrombozytopenie: A: 21 %; B: 41 % Anämie: A: 9 %; B: 28 %	[55, 58]
Metastasiertes Nieren-Karzinom	25	FUDR	zirkadian modifiziert (Max. 09.00–15.00 h)	vs.	kontinuierliche Dauerinfusion	r	Nausea, Erbrechen: A: 10 %; B: 40 %; starke Diarrhoe: A: 2 %; B: 17 %; Dosisreduktionen: A: 7 %; B: 50 %; Therapieaufschübe: A: 10 %; B: 25 %;	
ALL (Kindesalter)	118	MTX 6-MP (Erhaltungstherapie)	nach 17.00 h nach 17.00 h	vs.	vor 10.00 h nach 10.00 h	ret	Überlebenszeit: A: 4,6fach höher als B	[73]
Kolorektales Karzinom, davon vorbehandelt:	35 (13)	5-FU	um 04.00 h maximale Dosis (sinusoidale Applikation)			p	Ansprechrate: PR: 30 %; NC: 44 % (einarmige Studie)	[59]
Nichtkleinzelliges Bronchial-Karzinom	58	Cisplatin Etoposid	18.00 h 06.00 h	vs.	18.00 h 18.00 h	r	Ansprechrate: A: 61 %; B: 29 %	[28]

r = randomisiert zwischen Arm A und B; p = prospektiv, nicht randomisiert; ret = retrospektiv; PR = partielle Remissionen; NC = «no change», keine Änderung.

Technische Voraussetzungen

Früher waren praktische Schwierigkeiten der Therapie-Durchführung der Haupteinwand gegen die zeitlich optimierte Chemotherapie von Neoplasien. Besonders nachts schien die punktliche intravenöse Gabe von Zytostatika zu zeitaufwendig und praktisch undurchführbar. Seit der Einführung von programmierbaren Infusionspumpen, die hauptsächlich in den USA aus Dauerinfusionspumpen für die ambulante, intravenöse Chemotherapie weiterentwickelt wurden, scheinen diese Probleme überwunden. Verschiedene Firmen bieten mittlerweile auch in der Bundesrepublik derartige trag- und programmierbare Infusionspumpen an. Teilweise sind die Pumpen schon lange in anderen Anwendungsbereichen (ambulante, intravenöse Schmerztherapie) erprobt. Mit als solcher Infusionssysteme wird in den USA bereits ein großer Teil der Chemotherapien ambulant durchgeführt. Die Pumpen erwiesen sich als sicher und zuverlässig. Die Durchführung einer ambulanten Chemotherapie ist zudem erheblich

kostengünstiger als die stationäre, was in den USA der Hauptgrund für die Entwicklung derartiger Systeme war. Auch in der Bundesrepublik dürfte dieser Aspekt in Zukunft eine größere Rolle spielen. Erste klinische Erfahrungen in der Chronotherapie mit derartigen Pumpen wurden kürzlich publiziert [57]. Oft wird für die Durchführung ambulanter, intravenöser Chemotherapien die Implantation eines Port-Katheter-Systems benötigt. Diese Methode des zentralen Venenzugangs hat sich bewährt und ist mit einer geringeren Komplikationsrate behaftet als die normalen zentralvenösen Zugänge [12, 43, 60, 89].

Schlußfolgerung

Alle in der Hämato-Onkologie wichtigen Variablen weisen erhebliche zirkadiane Schwankungen auf. Es scheint einleuchtend, daß eine Berücksichtigung dieser zeitlichen Phänomene sich in der Anwendung von Zytostatika vorteilhaft auswirkt.

Eine zeitliche Optimierung könnte vor allem die teilweise erheblichen Nebenwirkungen der Chemotherapie reduzieren. Eine große Zahl tierexperimenteller Daten unterstützt diese Annahme. Die tageszeitlichen Schwankungen der Toxizität bestimmter Zytostatika sind ausgeprägt. Erste klinische Versuche einer tageszeitlich optimierten Chemotherapie bei Tumor-Patienten scheinen diese Resultate zu bestätigen. Um die klinische Relevanz dieser Befunde zu überprüfen, sind allerdings weitere große, randomisierte und prospektive Studien notwendig. In letzter Zeit wurden vor allem in Frankreich und in den USA Studien-Protokolle zur Chrono-Chemotherapie verschiedener Tumoren (siehe Tab. 3) initiiert. Derartige Studien erscheinen besonders gerechtfertigt, wenn man an die hohen finanziellen Aufwendungen für die Entwicklung neuer Zytostatika denkt, mit denen häufig vor allem eine Verringerung der Nebenwirkungen erreicht werden soll.

Literatur

- 1 Abo T, Kawate T, Itoh K, et al: Studies on the bioperiodicity of the immune response. I. Circadian rhythms of human T, B, and K cell traffic in the peripheral blood. *J Immunol* 1981;126:1360.
- 2 Allemand R, Fouillet P, David JR: Genetic variability of circadian rhythm of oviposition in natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Genet Select Evolut* 1984;16:27.
- 3 Aschoff J: Zeitgeber der tierischen Tagesperiodik. *Naturwiss* 1954;41:49.
- 4 Aschoff J, Wever R: Spontanperiodik des Menschen bei Ausschluß aller Zeitgeber. *Naturwiss* 1962;49:337.
- 5 Aschoff J: Zirkadiane Rhythmen des Menschen. *Arzneim Forsch - Drug Res* 1978;28:1850.
- 6 Badran AF, Echave-Llanos JM: Persistence of mitotic circadian rhythm of a transplantable mammary carcinoma after 35 generations: its bearing on the success of treatment with endoxan. *J Natl Cancer Inst* 1965;35:285.
- 7 Barcal R, Sova J, Krizanovska M, Lévy J, Matousek J: The genetic background of circadian rhythms. *Nature* 1984;220:1128.
- 8 Bargiello TA, Young MW: Molecular genetics of a biological clock in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:2142.
- 9 Bélanger PM: Chronobiological variation in the hepatic elimination of drugs and toxic chemical agents. *Ann Rev Chronopharmacol* 1988;4:1.
- 10 Boubill JL, Milano G, Khater R, et al: Continuous 5-day regional chemotherapy by 5-fluorouracil in colon carcinoma: pharmacokinetic evaluation. *Br J Cancer* 1985;52:15.
- 11 Boughattas NA, Lévi F, Hecquet B, et al: Circadian time dependence of murine tolerance for carboplatin. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988;96:233.
- 12 Brincker H, Saeter G: Fifty-five patient years' experience with a totally implanted system for intravenous chemotherapy. *Cancer* 1986;57:1124.
- 13 Bünning E: Zur Kenntnis der erblichen Tagesperiodizität bei den Primärblättern von *Phaseolus multiflorus*. *Jahrb Wiss Botan* 1935;81:411.
- 14 Burns ER: Circadian rhythmicity in DNA synthesis in untreated and saline-treated mice as a basis for improved chronochemotherapy. *Cancer Res* 1981;41:2795.
- 15 Burns ER: Circadian biological time influences the effect adriamycin has on DNA synthesis in mouse bone marrow, ileum and tongue but not Ehrlich ascites carcinoma. *Oncology* 1985;42:384.
- 16 Cal JC, Dorian C, Cambar J: Circadian and circannual changes in nephrotoxic effects of heavy metals and antibiotics. *Ann Rev Chronopharmacol* 1986;2:143.
- 17 Canon C, Lévi F, Reinberg A, et al: Circulating cALLa-positive lymphocytes exhibit circadian rhythms in man. *Leukemia Res* 1985;9:1539.
- 18 Cardoso SS, Avery T, Venditti JM, et al: Circadian dependence of host and tumor response to cyclophosphamide in mice. *Eur J Cancer* 1978;14:949.
- 19 Davies G, McDonald J, Halberg F, et al: Circadian rhythm in murine tolerance of daunomycin (lett.). *Lancet* 1979;ii:779.
- 20 Dörmer P, Schmolke W, Muschalik P, et al: Die DNS-Synthesegeschwindigkeit im Verlaufe der DNS-Synthesephase von Erythroblasten der Maus in vivo. *Beitr Pathol* 1970;141:174.
- 21 English J, Aherne GW, Marks V: The effect of timing of a single injection on the toxicity of methotrexate in the rat. *Cancer Chemother Pharmacol* 1982;9:114.
- 22 Ensminger WD, Rojowsky A, Raso V, et al: III. A clinical pharmacological evaluation of hepatic arterial infusion of 5-fluoro-2'-deoxyuridine and 5-fluorouracil. *Cancer Res* 1978;38:3784.
- 23 Gerbes AL, Arbogast B: Chronobioassay of radiation injury in mice with and without time shift. *Ann Rev Chronopharmacol* 1984;1:369.
- 24 Ferlé-Vidovic A, Blazsek I, Lévi F: Circadian time-dependence of murine bone marrow tolerance for the anticancer agent 4'-O-tetrahydropyranlyladiamycin (THP). *Ann Rev Chronopharmacol* 1986;3:195.
- 25 Feuers RF, Scheving LE: Chronobiology of hepatic enzymes. *Ann Rev Chronopharmacol* 1988;4:209.
- 26 Focan C, Barbason H, Betz EH: Influence du rythme nyctéméral des divisions cellulaires sur l'efficacité de la cyclophosphamide contre des sarcomes induits par le méthylcholanthrène. *C R Acad Sci Paris* 1973;276:136.
- 27 Focan C: Sequential chemotherapy and circadian rhythm in human solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 1979;3:197.
- 28 Focan C, Krakowski I, Lévi F: Chronochemotherapy with etoposide and cisplatin for advanced human non-small cell lung carcinoma (NSLC) - a randomized trial of the «Groupe cancer - association de chronobiologie médicale» (unveröffentlichte Daten).
- 29 Halberg F: Physiologic 24-hour periodicity; general and procedural considerations with reference to the adrenal cycle. *Z Vitamin-, Hormon-, Fermentforsch* 1959;10:225.
- 30 Halberg F: Temporal coordination of physiologic functions. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1960;25:11.
- 31 Halberg F, Johnson EA, Nelson W, et al: Autorhythmometry-procedures for physiologic self-measurement and their analysis. *Physiol Teacher* 1972;1:1.
- 32 Halberg F, Reinberg A: Rythmes circadiens et rythmes de basses fréquences en physiologie humaine. *J Physiol (Paris)* 1967;59:117.
- 33 Halberg F, Haus E, Cardoso SS, et al: Toward a chronotherapy of neoplasia: tolerance of treatment depends on host rhythms. *Experientia* 1973;29:909.
- 34 Halberg F, Nelson W, Lévi F, et al: Chronotherapy of mammary cancer in rats. *Int J Chronobiol* 1980;7:85.
- 35 Haus E, Halberg F, Scheving LE, et al: Increased tolerance of leukemic mice to arabinosyl cytosine with schedule adjusted to circadian system. *Science* 1972;177:80.
- 36 Haus E, Lakatua DJ, Swoyer J, et al: Chronobiology in hematology and immunology. *Am J Anat* 1983;168:467.
- 37 Haus E, Graziella YN, Lakatua D, et al: Reference values for chronopharmacology. *Ann Rev Chronopharmacol* 1988;4:3.
- 38 Hrushesky WJM, Lévi F, Halberg F, et al: Circadian stage dependence of cis-diamminedichloroplatinum lethal toxicity in rats. *Cancer Res* 1982;42:945.
- 39 Hrushesky WJM: The clinical application of chronobiology to oncology. *Am J Anat* 1983;168:519.
- 40 Hrushesky WJM: Circadian timing of cancer chemotherapy. *Science* 1985;228:73.
- 41 Hrushesky WJM, Roemeling R von, Rabatin JT: Circadian phase shift

- ping of FUDR infusion reduces toxicity even at higher dose intensity (Abstract). Proc 4th Eur Conf Clin Oncol, Madrid, November 1-4, 1987, p 157.
- 42 Hrushesky WJM, Roemeling R von, Fraley EE, et al: Circadian-based infusional chrono-chemotherapy controls progressive metastatic renal cell carcinoma. *Semin Surg Oncol* 1988;4:110.
 - 43 Hughes CB: A totally implantable central venous system for chemotherapy administration. *Natl Intraven Ther Ass (NITA)* 1985;8:523.
 - 44 Hunt NH, Perris AD: Calcium and the control of circadian mitotic activity in rat bone marrow and thymus. *J Endocrinol* 1974;62:451.
 - 45 Konopka RJ, Benzer R: Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971;58:2112.
 - 46 Krakowski I, Lévi F, Mechkouri M, et al: Dose intensity of etoposide (VP16)-cisplatin (CDDP) depends upon dosing time. *Ann Rev Chronopharmacol* 1988;5:301.
 - 47 Kühl JFW, Grage T, Halberg F, et al: Ellen-effect: Tolerance of adriamycin by mice and rats depend on circadian timing of injection. *Int J Chronobiol* 1973;1:335.
 - 48 Langevin T, Mormont MC, Sothorn R, et al: Comparison of murine circadian susceptibility to two chemically-related anthracyclines, epirubicin and doxorubicin. *Chronobiologia* 1987;14:195.
 - 49 Lévi F, Hrushesky WJM, Blomquist C, et al: Reduction of cis-diamminedichloroplatinum nephrotoxicity in rats by optimal circadian drug timing. *Cancer Res* 1982;42:950.
 - 50 Lévi F: Chronopharmacologie de trois agents doués d'activité anticancéreuse chez le rat et/ou la souris. Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences, Université Paris VI, France, 1982.
 - 51 Lévi F, Mechkouri M, Roulon A, et al: Circadian rhythm in tolerance of mice for the anthracycline analog 4'-tetrahydropyranyladriamycin (THP). *Eur J Cancer Clin Oncol* 1985;121:1245.
 - 52 Lévi F, Canon C, Blum JP, et al: Circadian and/or circadian rhythms in nine lymphocyte-related variables from peripheral blood of healthy subjects. *J Immunol* 1985;134:217.
 - 53 Lévi F, Bailleul F, Misset JL, et al: Large improvement of hematologic and renal tolerance for 4'-tetrahydropyranyladriamycin (THP) and cis-diamminedichloroplatinum (CDDP) at selected dosing times in patients (pts) with ovarian cancer (Abstract). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1986;5:190.
 - 54 Lévi F: Chronopharmacology of anticancer agents and cancer chronotherapy, in Kuemmerle H (Hrsg.): *Klinische Pharmakologie*. Landsberg, Ecomed 1987, II-2.15.3.3, 1.
 - 55 Lévi F, Bailleul F, Chevelle C, et al: Chronotherapy of ovarian cancer with 4'-tetrahydropyranyladriamycin (THP) and cis-dichlorodiammineplatinum (CDDP) (Abstract). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1987;6:119.
 - 56 Lévi F, Bougghattas NA, Blazsek I: Comparative murine chronotoxicity of anticancer agents and related mechanisms. *Ann Rev Chronopharmacol* 1988;4:283.
 - 57 Lévi F: Chronobiology in Oncology in 1987-1988. *Adv Biosci* 1988;73:261.
 - 58 Lévi F, Benavides M, Chevelle C: Chemotherapy of advanced ovarian cancer with 4'-tetrahydropyranyldoxorubicin (THP) and cis-dichlorodiammineplatinum (CDDP): A phase II trial, with an evaluation of circadian timing and dose intensity (im Druck).
 - 59 Lévi F, Soussan A, Adam R, et al: Programmable-in-time pumps for chronotherapy of patients (pts) with colorectal cancer with 5-day circadian-modulated venous infusion of 5-fluorouracil (CVI-Ura). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1989;8:111.
 - 60 Michich JJ, Becker B: Subclavian vein thrombosis in patients treated with infusion chemotherapy for advanced malignancy. *Cancer* 1983;52:1586.
 - 61 Bauer AM: Diurnal variation of proliferative activity in the human bone marrow. *Blood* 1965;26:1.
 - 62 Nishiyaki T, Taga K, Nagaoki T, et al: Circadian changes of lymphocyte subsets in human peripheral blood. *Clin Exp Immunol* 1984;55:618.
 - 63 Myers CE: The pharmacology of the fluoropyrimidines. *Pharmacol Rev* 1981;33:1.
 - 64 Petit E, Milano G, Lévi F, et al: Circadian rhythm-varying plasma concentration of 5-fluorouracil during a five-day continuous venous infusion at a constant rate in cancer patients. *Cancer Res* 1988;48:1676.
 - 65 Pizzarello DJ, Witcofska RL: A possible link between diurnal variations in radiation sensitivity of cell division in bone marrow of male mice. *Radiation* 1970;97:165.
 - 66 Radzialowski F, Bousquet W: Daily rhythmic variation in hepatic drug metabolism in rat and mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 1968;163:229.
 - 67 Reinberg A: Eclaircissement et cycle menstruel de la femme, in Benoit J, Assenmacher I (ed): *La photorégulation chez les oiseaux et les mammifères*. Coll Intern CNRS (Montpellier juillet 1967), Paris, CNRS Eds 1970, 529.
 - 68 Reinberg A: Biological rhythms, sleep and drugs, in Wheatley D (ed): *Psychopharmacology of Sleep*. New York, Raven 1981, pp 73.
 - 69 Reinberg A, Smolensky M: Circadian changes of drug disposition in man. *Clin Pharmacokin* 1981;7:401.
 - 70 Reinberg A, Smolensky M: *Biological rhythms and medicine*. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, Springer, 1983.
 - 71 Reinberg A, Touitou Y, Restoin A, et al: The genetic background of circadian and ultradian rhythm patterns of 17-hydroxycorticosteroids: a cross-twin study. *J Endocrinol* 1985;105:247.
 - 72 Reinberg A, Smolensky M, Labrecque G: New aspects in chronopharmacology. *Ann Rev Chronopharmacol* 1986;2:3.
 - 73 Rivard G, Infante-Rivard C, Champagne J: Maintenance chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: Better in the evening. *Lancet* 1985;i:1264.
 - 74 Ritchie AWS, Oswald I, Micklem HS, et al: Circadian variation of lymphocyte subpopulations: A study with monoclonal antibodies. *Br Med J* 1983;286:1773.
 - 75 Ross DD, Pollak A, Akman SA, et al: Diurnal variation of circulating human myeloid progenitor cells. *Exp Hematol* 1980;8:954.
 - 76 Scheving LE: Circadian rhythms in cell proliferation: Their importance when investigating the basic mechanism of normal versus abnormal growth, in von Mayersbach H, Scheving LE, Pauly JE (ed): *Biological rhythms in structure and function*. Progress Clin Biol Res, New York, Alan R. Liss 1981, vol 59c, pp 317.
 - 77 Scheving LE, Pauly JE: Cellular mechanisms involving biorhythms with emphasis on those rhythms associated with the S and M stages of cell cycle. *Int J Chronobiol* 1973;1:269.
 - 78 Scheving LE, Haus E, Kühl JFW, et al: Close reproduction by different laboratories of characteristics of circadian rhythm in 1-β-D-arabinofuranosylcytosine tolerance by mice. *Cancer Res* 1976;35:1133.
 - 79 Scheving LE, Burns ER, Pauly JE, et al: Survival and cure of leukemic mice after circadian optimization of treatment with cyclophosphamide and 1-β-D-arabinofuranosylcytosine. *Cancer Res* 1977;37:3648.
 - 80 Scheving LE, Burns ER, Pauly JE, et al: Circadian variation in cell division of the mouse alimentary tract, bone marrow and corneal epithelium. *Anat Rec* 1978;191:479.
 - 81 Sharkis SJ, Lobue J, Alexander P jr, et al: Circadian variations in mouse hematopoiesis, II. Sex differences in mitotic indices of femoral diaphyseal marrow cells. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971;138:494.
 - 82 Sothorn RB, Halberg F, Good R, et al: Differing characteristics of circadian rhythms in murine tolerance to chemically-related antimalignant antibiotics: Adriamycin and daunomycin, in Walker CA, Soliman K, Winget C (eds): *Chronopharmacology*. Tallahassee, University Press of Florida, 1981, pp 257.

- 83 Sothorn RB, Lévi F, Haus E, et al: Control of a murine plasmocytoma with doxorubicin-cisplatin: dependence of the circadian stage of treatment. J Natl Cancer Inst 1989;81:135.
- 84 Steiner B, Mukai K, Hrushesky WJM: Changes in circadian rhythm characteristics of pulse indicate doxorubicin-induced cardiac toxicity (Abstract). Proc AACR 1982;23:634.
- 85 Tavadia HB, Fleming KA, Hume PD, et al: Circadian rhythmicity of human plasma cortisol and PHA-induced lymphocyte transformation. Clin Exp Immunol 1975;22:190.
- 86 Roemeling R von, Rabatin JT, Hrushesky WJM: Long-term infusional circadian based chronochemotherapy controls progressive metastatic renal cell carcinoma (Abstract). Proc 4th Eur Conf Clin Oncol, Madrid, 1987, 233.
- 87 Roemeling R von, Rabatin JT, Fraley EE, et al: Progressive metastatic renal cell carcinoma controlled by continuous 5-fluorouracil infusion. J Urol 1988;139:259.
- 88 Wagner JG, Gyves JW, Stetson PL, et al: Steady-state non linear pharmacokinetics of 5-fluorouracil during hepatic arterial and intravenous infusions in cancer patients. Cancer Res 1986;46:1499.
- 89 Wilkes G, Vannicola P, Starck P: Long-term venous access. The implant's hidden benefits: A direct line to the vein and less trauma for the patient. Am J Nurs 1985;7:793.

Sonderdruckbestellungen an:

Dr. Michael Hallek,

Medizinische Klinik Innenstadt der Universität München,

Ziemssenstraße 1, D-8000 München 2 (BRD)

FARMITALIA CARLO ERBA PREIS 1990

Arbeitsgemeinschaft

INTERNISTISCHE ONKOLOGIE

in der deutschen Krebsgesellschaft e.V.

**schreibt aus: 2 Preise zum Thema:
Pathogenese, Pathophysiologie
und Therapie maligner Tumoren**

Jeder der Preise ist mit DM 15000 – dotiert.

Stifter: Farmitalia Carlo Erba GmbH

Merzhauser Str. 112 · 7800 Freiburg

Teilnahmeberechtigt sind alle Ärzte und Naturwissenschaftler aus der Bundesrepublik Deutschland, der Deutschen Demokratischen Republik, der Schweiz und Österreich.

Die eingereichten wissenschaftlichen Originalarbeiten müssen im Jahre 1989 erschienen oder zur Publikation angenommen sein, wobei die Rechte der Veröffentlichung auch dem Stifter eingeräumt werden müssen

**Die Arbeiten müssen in deutscher Sprache verfaßt sein und bis zum
31.12.89 eingereicht werden (6 Exemplare) beim**

AIO-Sekretariat, Martinistr. 52, D-2000 Hamburg 20, Tel.: (040) 4 68-2924