Oxygen effect and tumor microenvironment

Marianne Koritzinsky

Princess Margaret Cancer Centre
Toronto, Canada
Marianne.Koritzinsky@uhnresearch.ca
@MKoritzinsky

Learning objectives

- Analyze how oxygen availability influences clonogenic radiation survival.
- Describe why oxygen availability influences clonogenic radiation survival.
- Identify the main causes of hypoxia in tumors.
- Describe the spatial and temporal heterogeneities of oxygenation.
- Explain why fractionating radiotherapy is beneficial from the perspective of tumor oxygenation.

1909 - Hypoxia causes radiation resistance

MÜNCHENER
MEDIZINISCHE WOCHENSCHRIFT.
ORGAN FÜR AMTLICHE UND PRAKTISCHE ÄRZTE.

No. 24. 15. Juni 1909. Redaktion: Dr. B. Spatz, Arnulfstrasse 26. Verlag: J. F. Lehmann, Paul Heysestrasse 26. 56. Jahrgang.

(Nachdruck der Originalartikel ist nicht gestattet.)

Originalien.

Aus dem Röntgenlaboratorium des Wiener k. k. allg. Krankenhauses (Leiter: Doz. Dr. G. Holzknecht).

Ueber Desensibilisierung gegen Röntgen- und Radiumstrahlen.

Von Dr. Gottwald Schwarz.

Da sich die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Haut bei der grossen Empfindlichkeit und der oberflächlichen Lage dieses Organs am deutlichsten manifestierte, war die Radiotherapie ursprünglich blosse Dermatotherapie. Heute ist dies längst anders. Der ungleich bedeutungsvollere Teil des Anwendungsgebietes der X-Strahlen betrifft die malignen Bluterkrankungen und Geschwulstbildungen, wo wir schon heute über Ergebnisse verfügen, die man vor wenigen Jahren noch als durchaus unmöglich bezeichnet hätte.

Aber gerade hier, bei den „Tiefenbestrahlungen", wie man es nennt, erfahren wir ein sehr störendes Hemmnis, eben durch jene hohe Sensibilität der Hautdecke, die unserem therapeutischen Vorgehen ein unüberschreitbares, meist vorzeitiges Ziel setzt. Wie oft müssen wir uns bei einem leukämischen Rückfall, bei nur unvollständiger Rückbildung oder beim Rezidiv einer durch Bestrahlung schon günstig beeinflussten Geschwulst sagen: „Wir könnten mehr leisten, könnten wir nur mehr bestrahlen. Wir können es aber nicht, weil wir dann die Haut gefährden und dem Kranken durch eine „Röntgenverbrennung" schweren und schmerzvollen Schaden zufügen würden."

Das Bestreben, hier Abhilfe zu schaffen, führte mich auf folgenden Weg:

Schon vor zwei Jahren hatte ich mich durch Versuche an Pflanzenkeimlingen (Mitteil. a. d. Wiener Röntgenlabor., Jena, G. Fischer, 1907) darüber belehrt, dass zwischen der Stoffwechselgrösse und der Röntgenlichtempfindlichkeit der Pflanzenzelle ein inniger Zusammenhang bestehe. Bestrahlte ich trockenen Samen, in welchem der Embryo sich im Zustande eines „latenten" Lebens befindet, sein Stoffwechsel auf ein Minimum eingeschränkt ist, so blieben selbst enorme Röntgenlichtmengen (tagelange Bestrahlungen) ohne Effekt. Ausgesät, wuchsen normale Individuen heran.

Bestrahlte ich jedoch aufgequollenen Samen, war das Wachstum eingeleitet, der Wechsel der Stoffe rege geworden, so genügten schon ganz kleine Röntgenlichtdosen, um hochgradige, charakteristische Veränderungen, Wachstumsstörungen und Pigmentationen zu erzeugen.

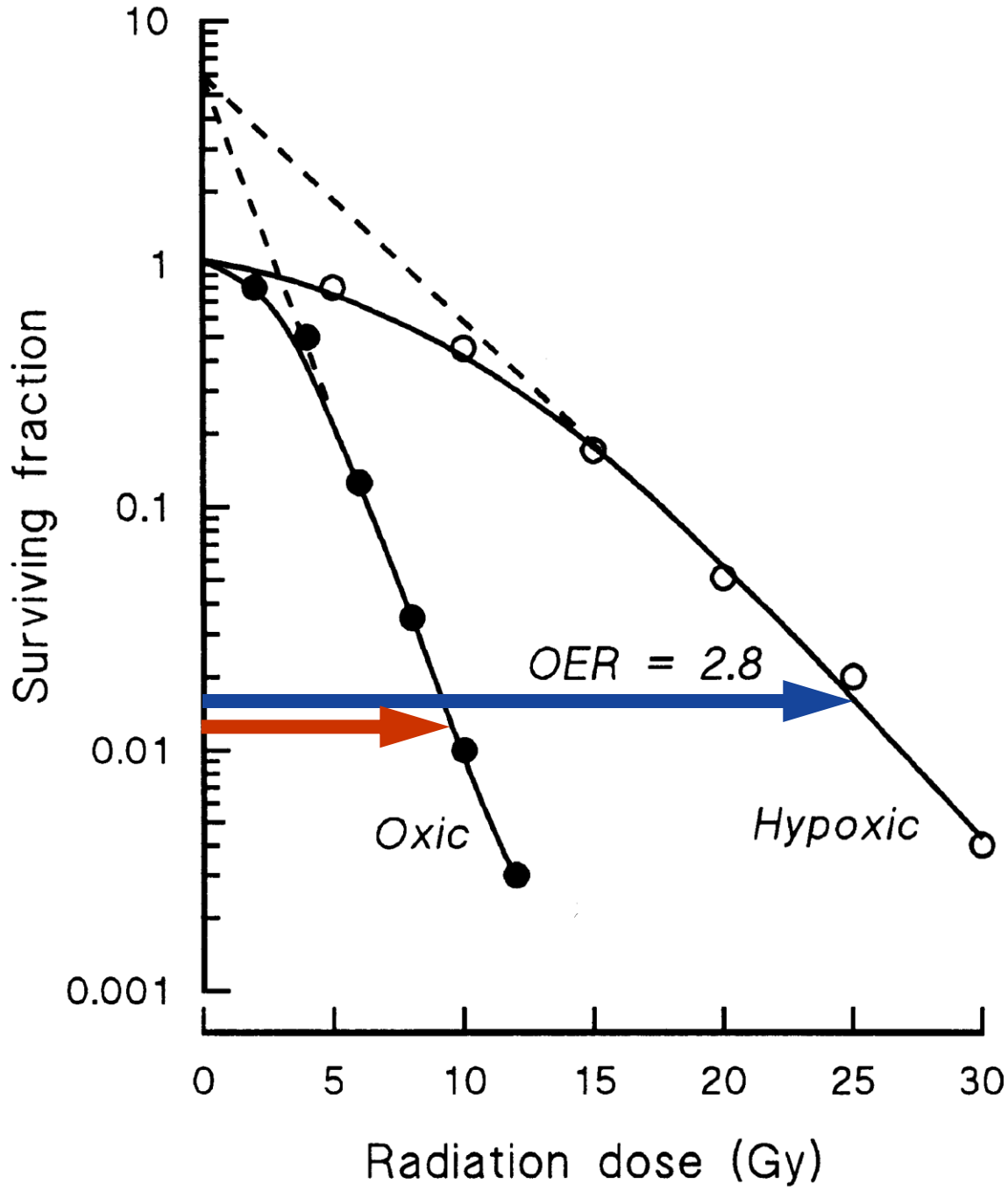
Dieser Konnex zwischen Stoffwechselgrösse und Röntgensensibilität, den mir manche Beobachtung auch aus meiner radiotherapeutischen Tätigkeit zu bestätigen schien, brachte mich nun zu folgender Ueberlegung. War die Hypothese richtig, derzufolge ein Zellkomplex um so empfindlicher gegen Strahlenwirkung anzusehen wäre, je stärker dessen Stoffwechsel ist, so mussten alle diejenigen Agentien, die den Stoffwechsel vermindern, auch die Strahlenempfindlichkeit vermindern.

Zur Entscheidung dieser Frage unternahm ich folgenden Versuch: Bei einem 11 jährigen Mädchen, das uns wegen eines ausgedehnten Naevus flammans des Vorderarms zur Radiumbehandlung zugewiesen worden war, bestrahlte ich zwei benachbarte Hautstellen mittels unserer würfelförmigen Radiumkapsel, am selben Tage, gleich lange Zeit (je 1 Stunde lang), war die Haut komprimiert, anämisiert, der Saftzufluss gesperrt, der Stoffwechsel also gehemmt — die postulierte Bedingung somit erfüllt (Fig. 1).

Fig. 1.

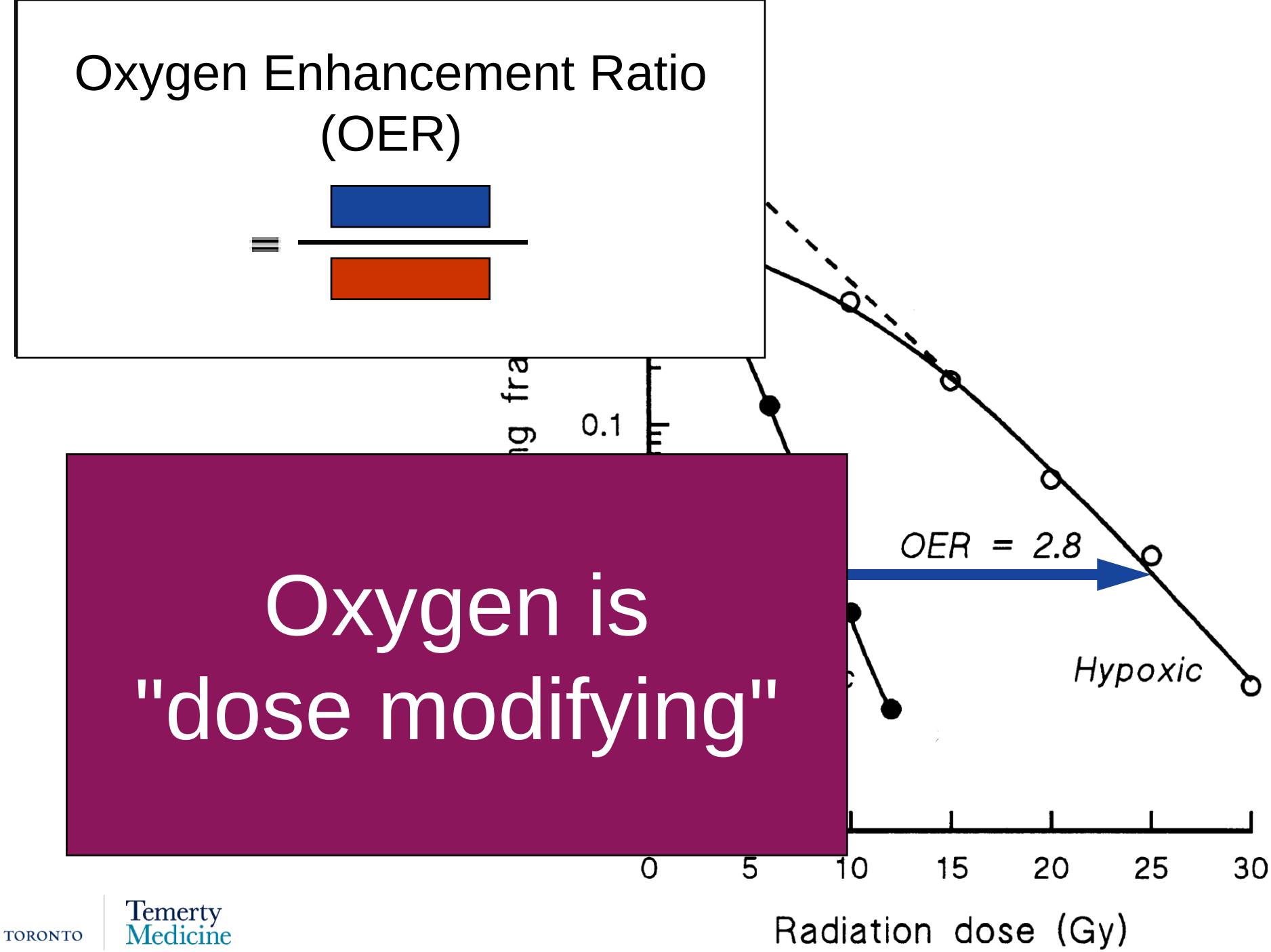
Das Ergebnis dieses Versuches war ein solches, wie ich es zu erhoffen wohl nicht gewagt hatte (Fig. 2).

Bestrahlung mittels 60 mg Radiumbromid am 16. März.

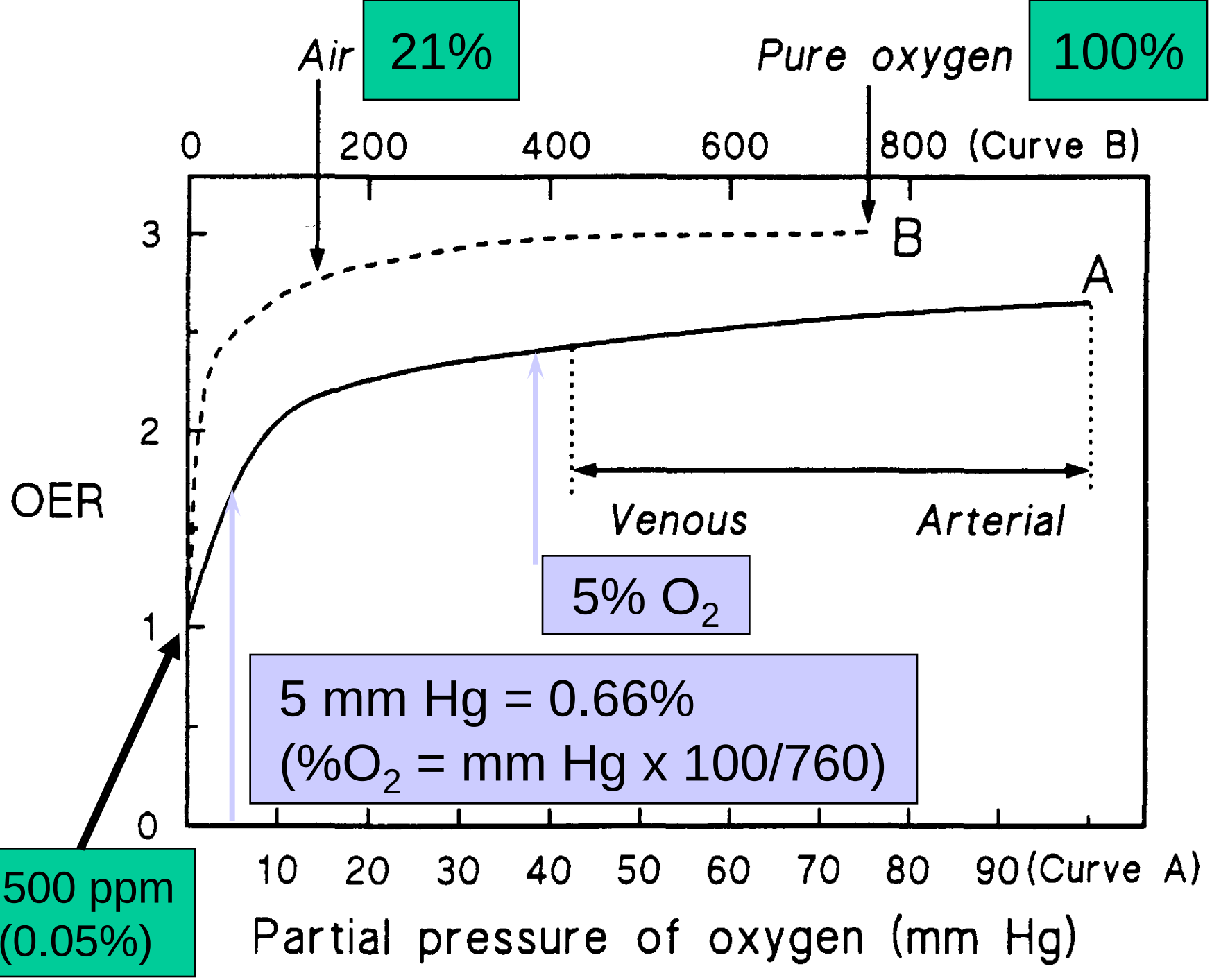

10
1
0.1
0.01
0.001
Surviving fraction
OER = 2.8
Oxic
Hypoxic
0
5
10
15
20
25
30
Radiation dose (Gy)

Oxygen Enhancement Ratio (OER)

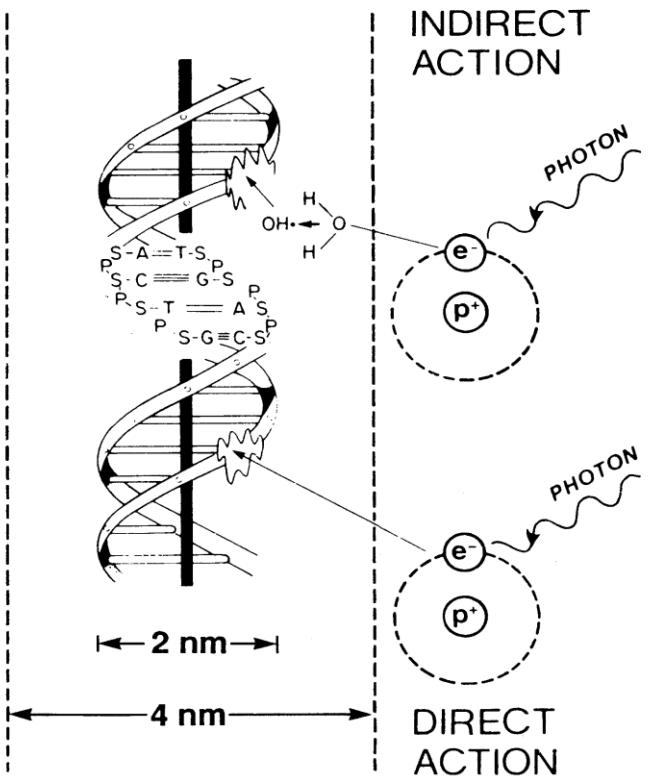
$$= \frac{\text{blue}}{\text{red}}$$



Oxygen is "dose modifying"

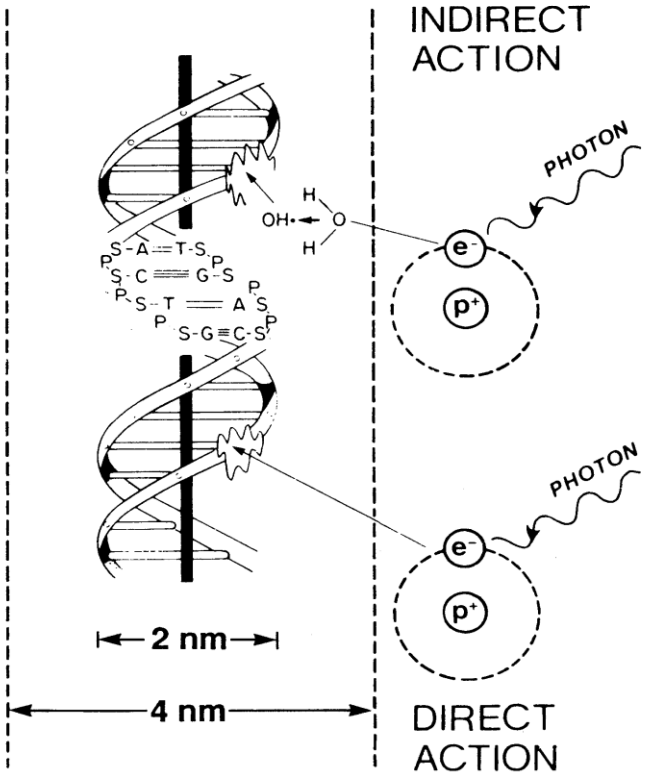

Air
21%
Pure oxygen
100%
0
200
400
600
800 (Curve B)
B
A
3
2
1
0
OER
Venous
Arterial
5% O_2
5 mm Hg = 0.66%
(%O_2 = mm Hg x 100/760)
<500 ppm
(0.05%)
10
20
30
40
50
60
70
80
90 (Curve A)
Partial pressure of oxygen (mm Hg)

Direct and indirect actions of radiation



- **Direct action:** charged particle "directly" interacts with DNA
- **Indirect action:** charged particle interacts with a water molecule producing "free radicals" which then interacts with DNA
- For X and γ radiations, indirect interactions cause ~70% of the biological damage. *This is sensitive to oxygen.*

Mechanism of the oxygen effect



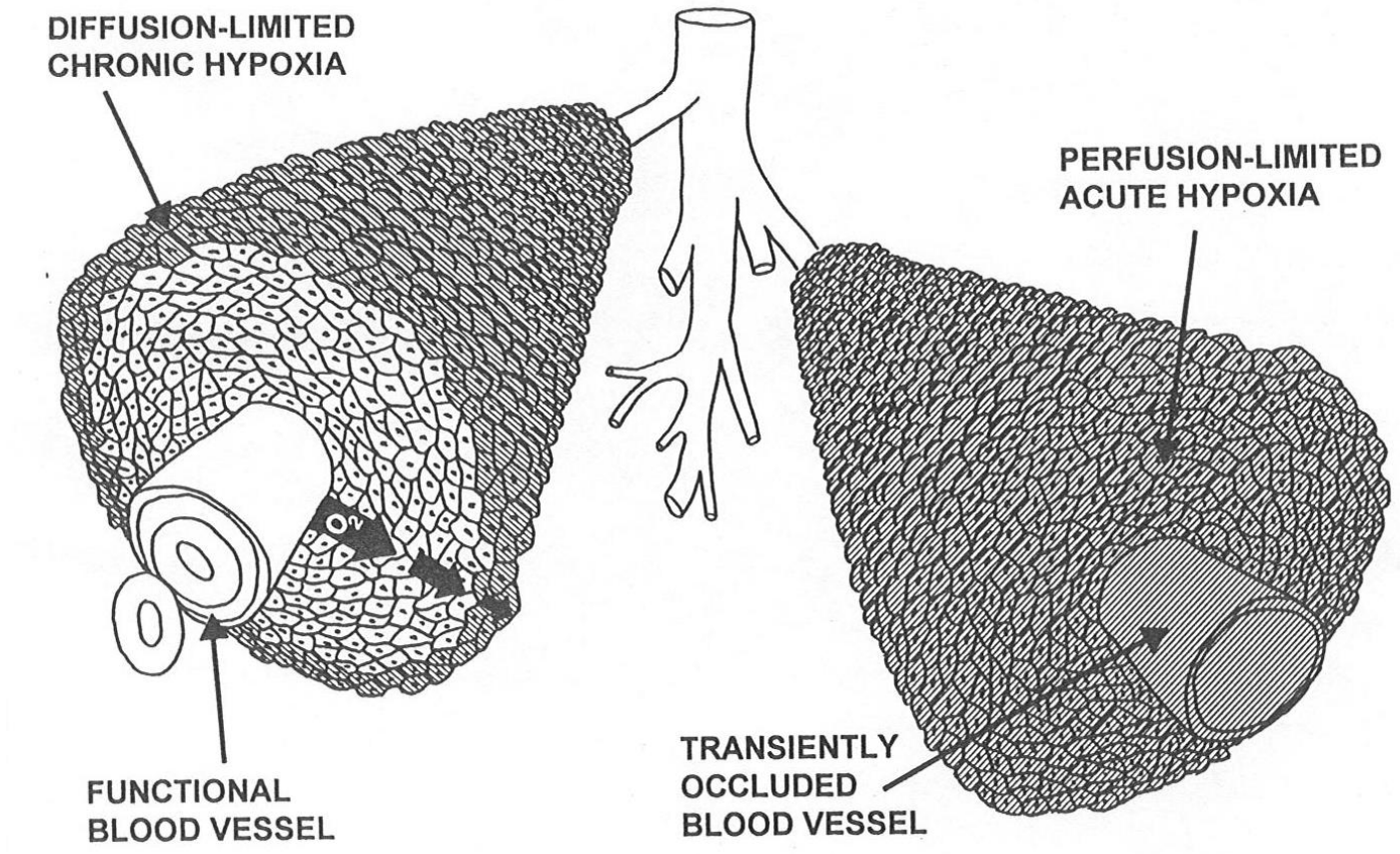
$$2\,H_2O \longrightarrow H_3O^+ + OH\bullet + e^-$$

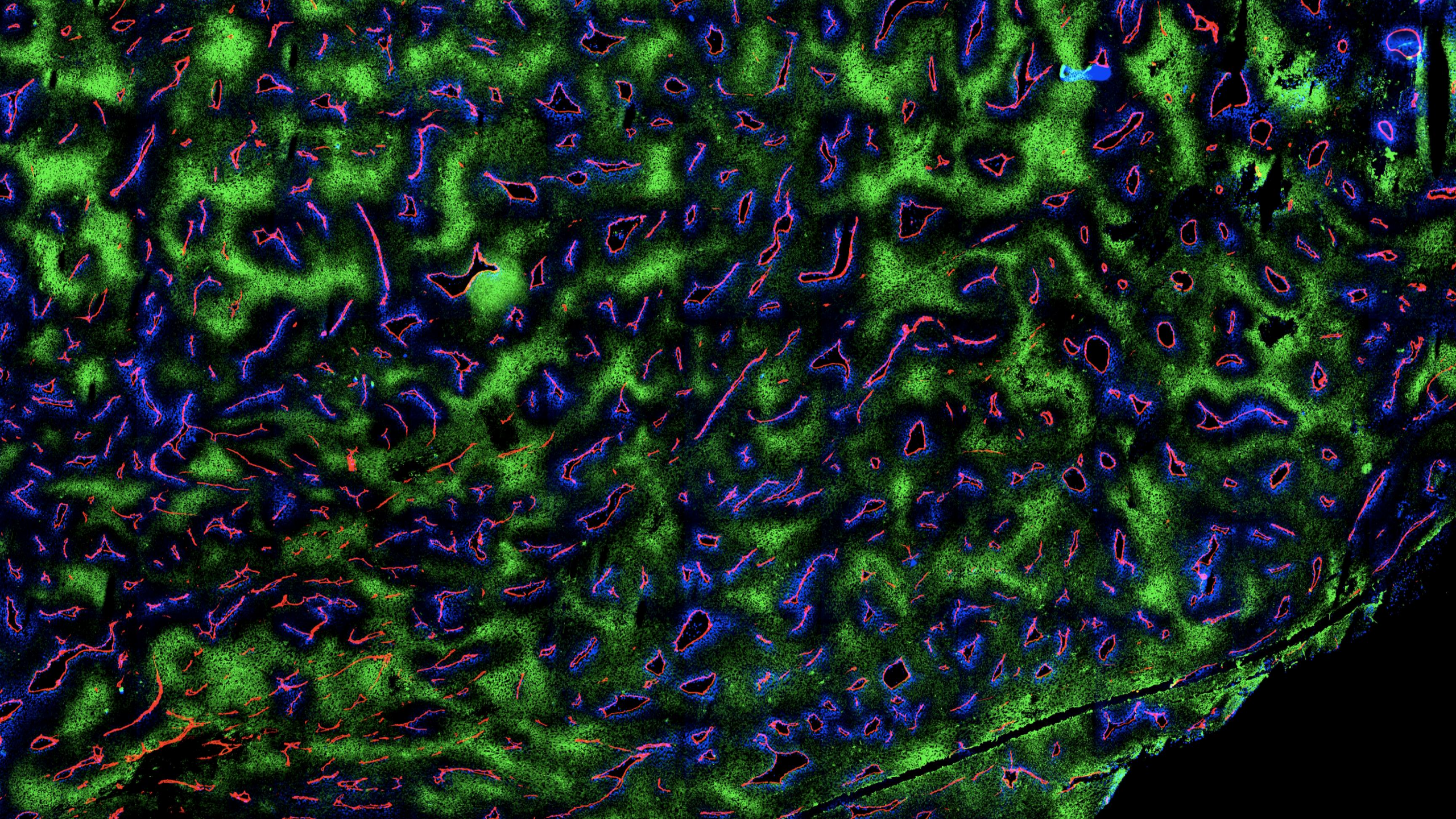
$$DNA\text{-}H \longrightarrow DNA\bullet$$

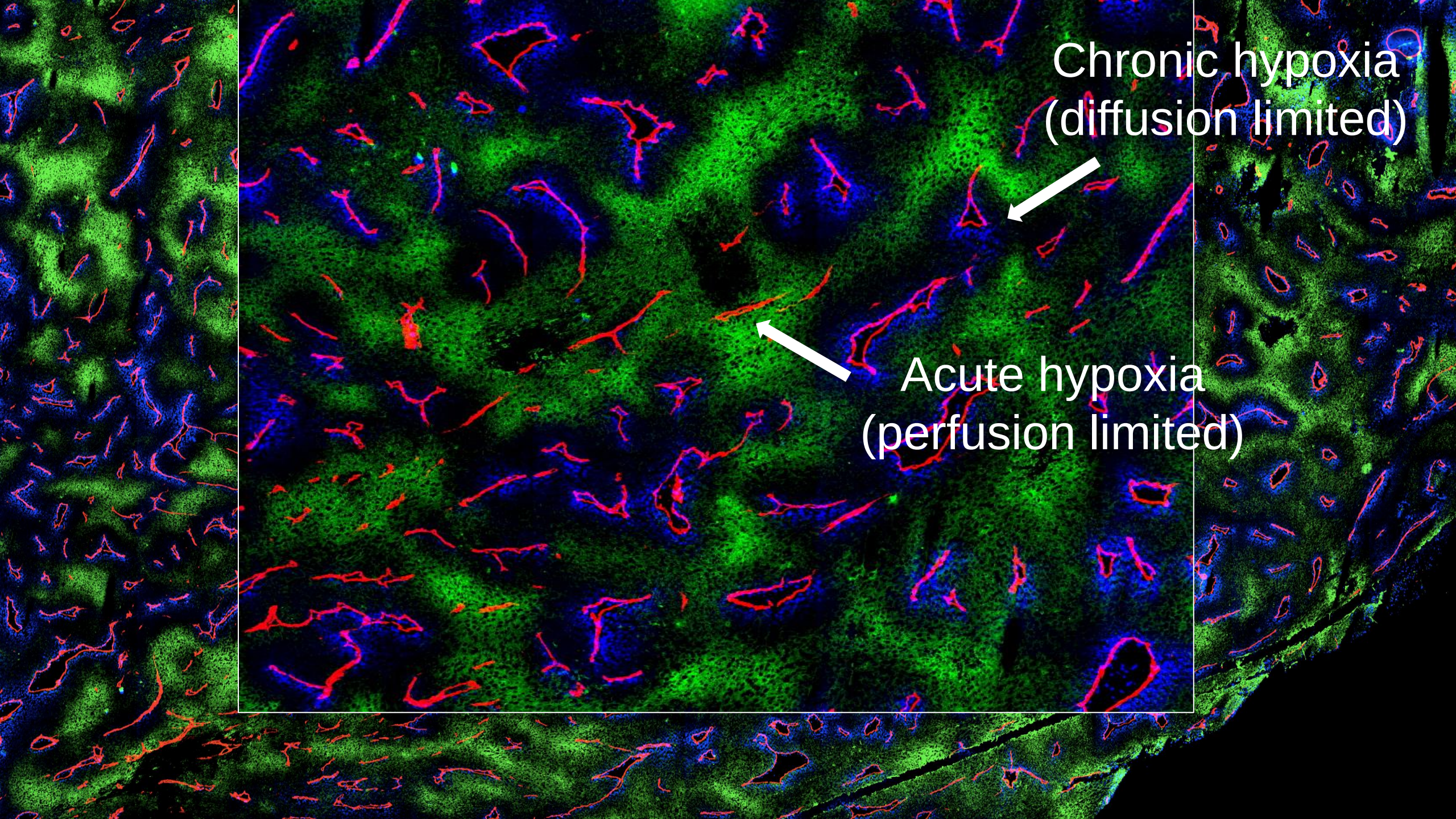
O_2 → DNA-OOH (Damage fixation)

SH → DNA-H (Damage restitution)

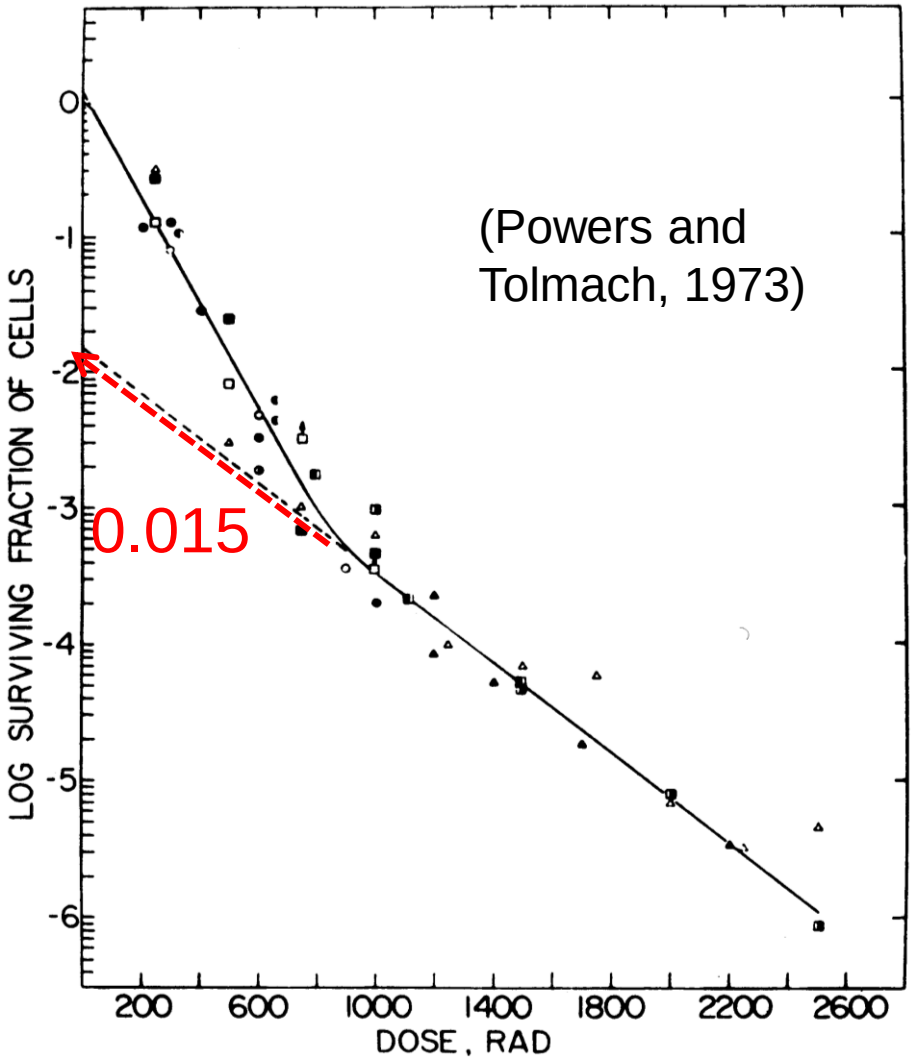
Hypoxia is present in human tumors






Chronic hypoxia
(diffusion limited)
Acute hypoxia
(perfusion limited)

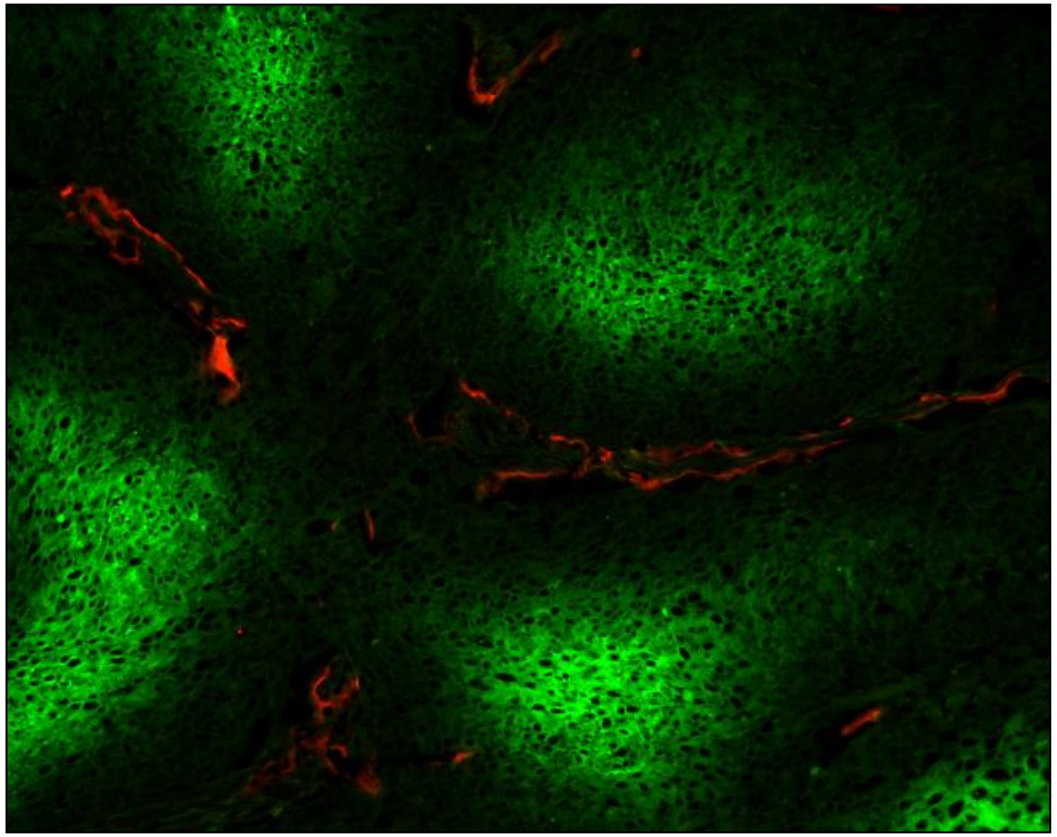
Early demonstration of radiation resistant hypoxic cells in a tumor:

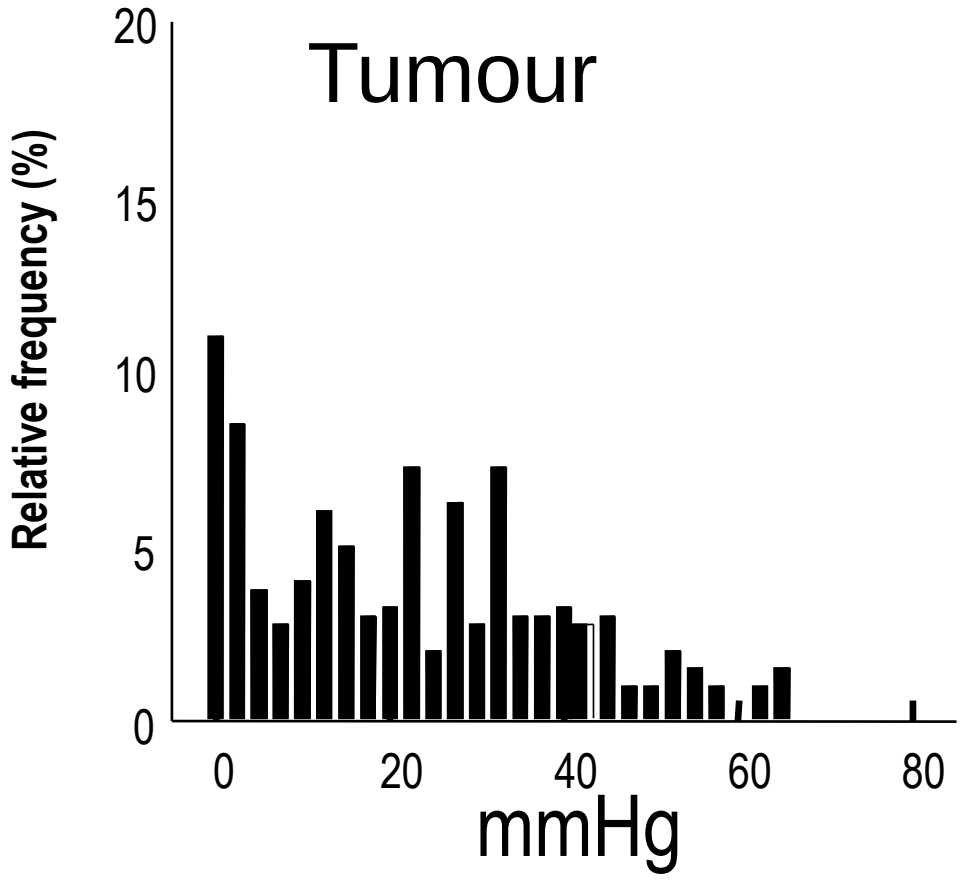


Heterogeneity in oxygenation

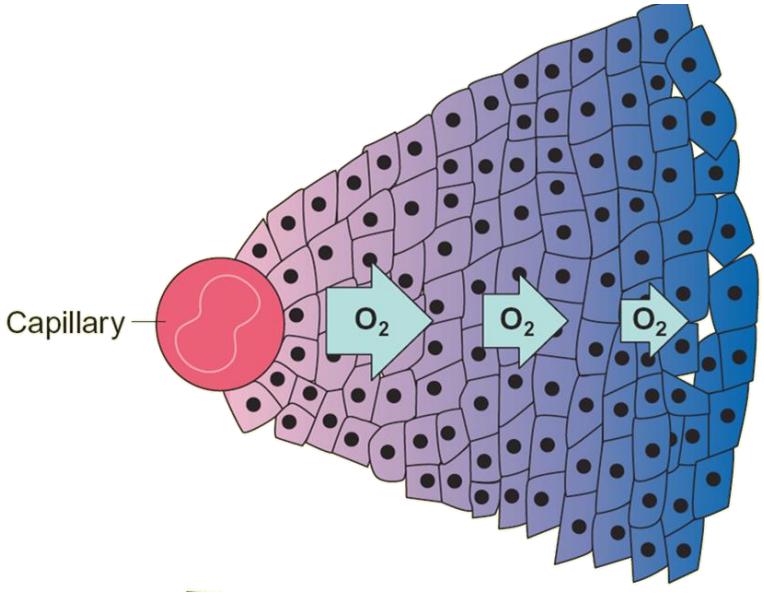
a) In severity
b) In space
c) In time
d) Amount (%) amongst patients

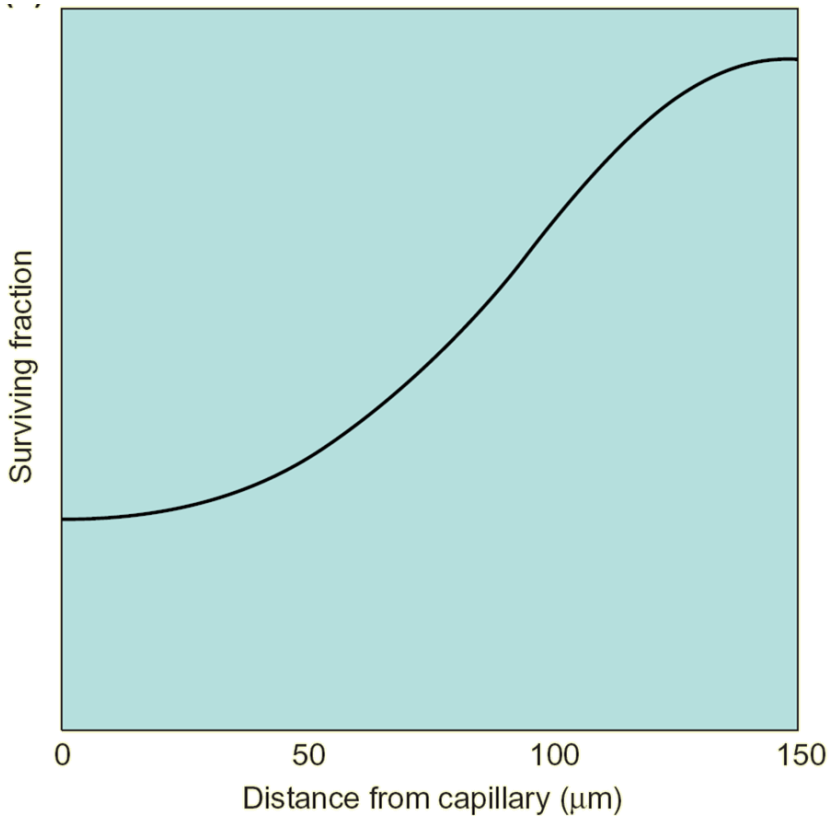
a) Heterogeneity in severity





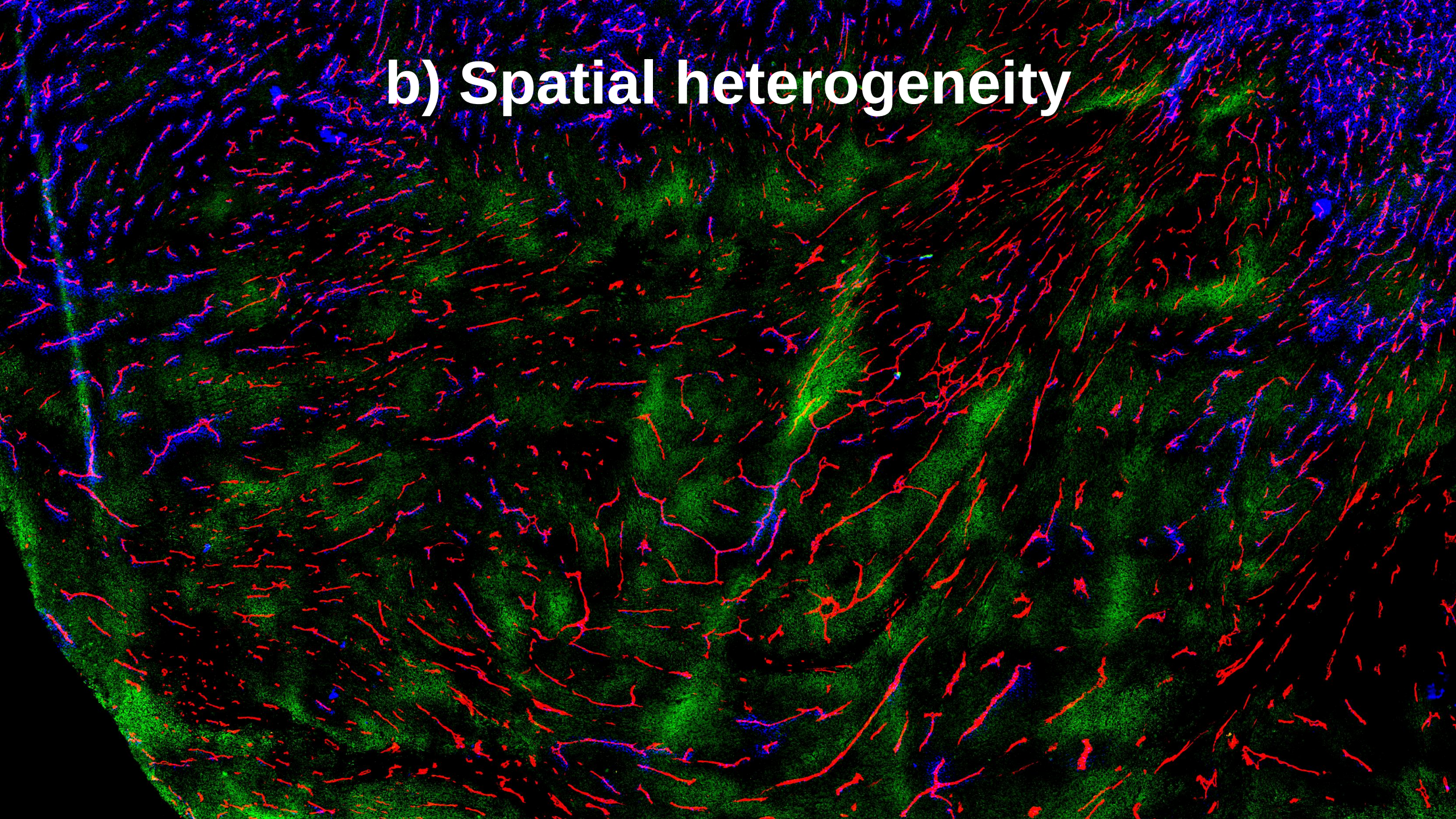
Severity and radiation response



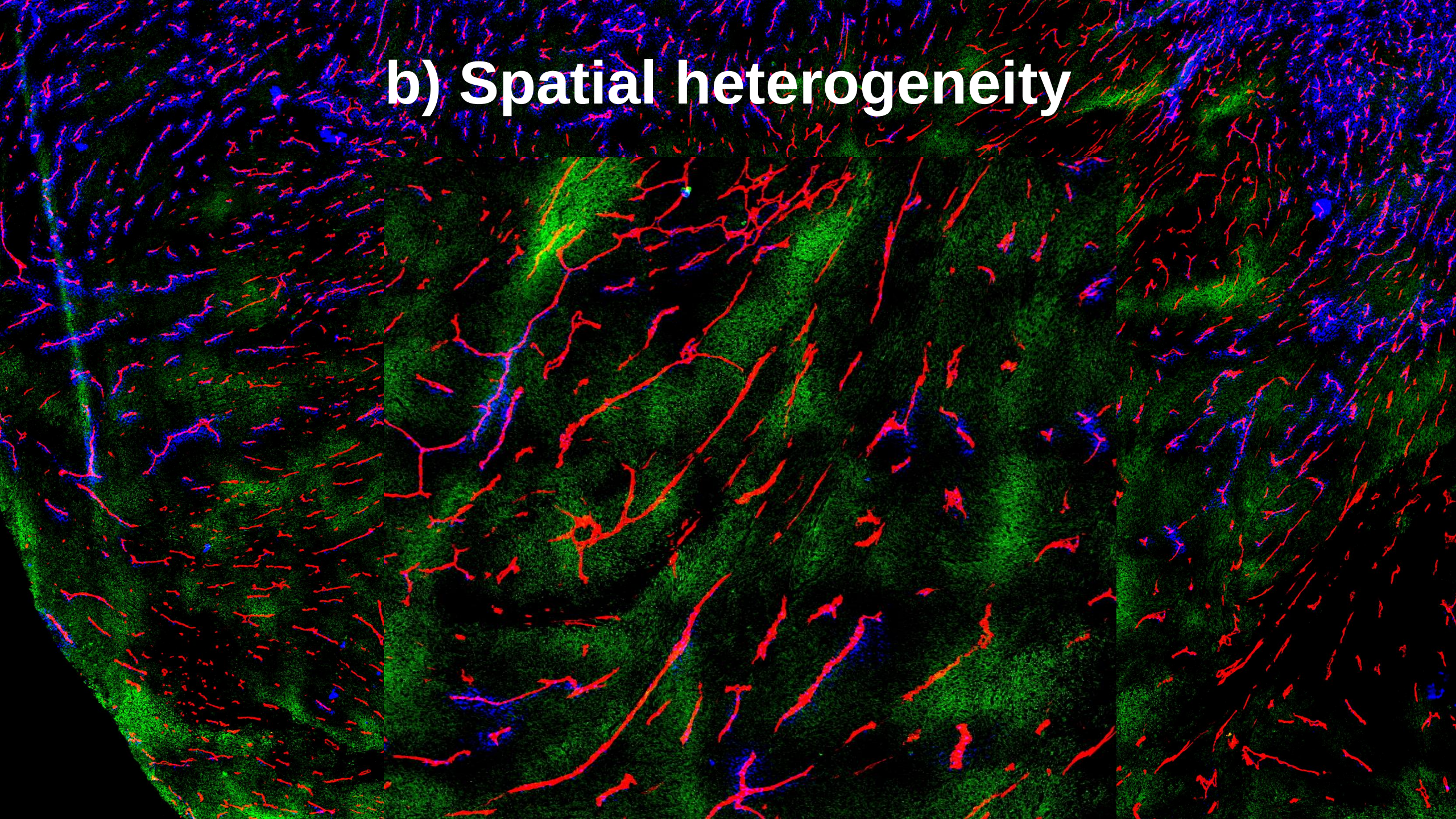


Cell killing by radiation will be reduced as a function of distance from the capillary.

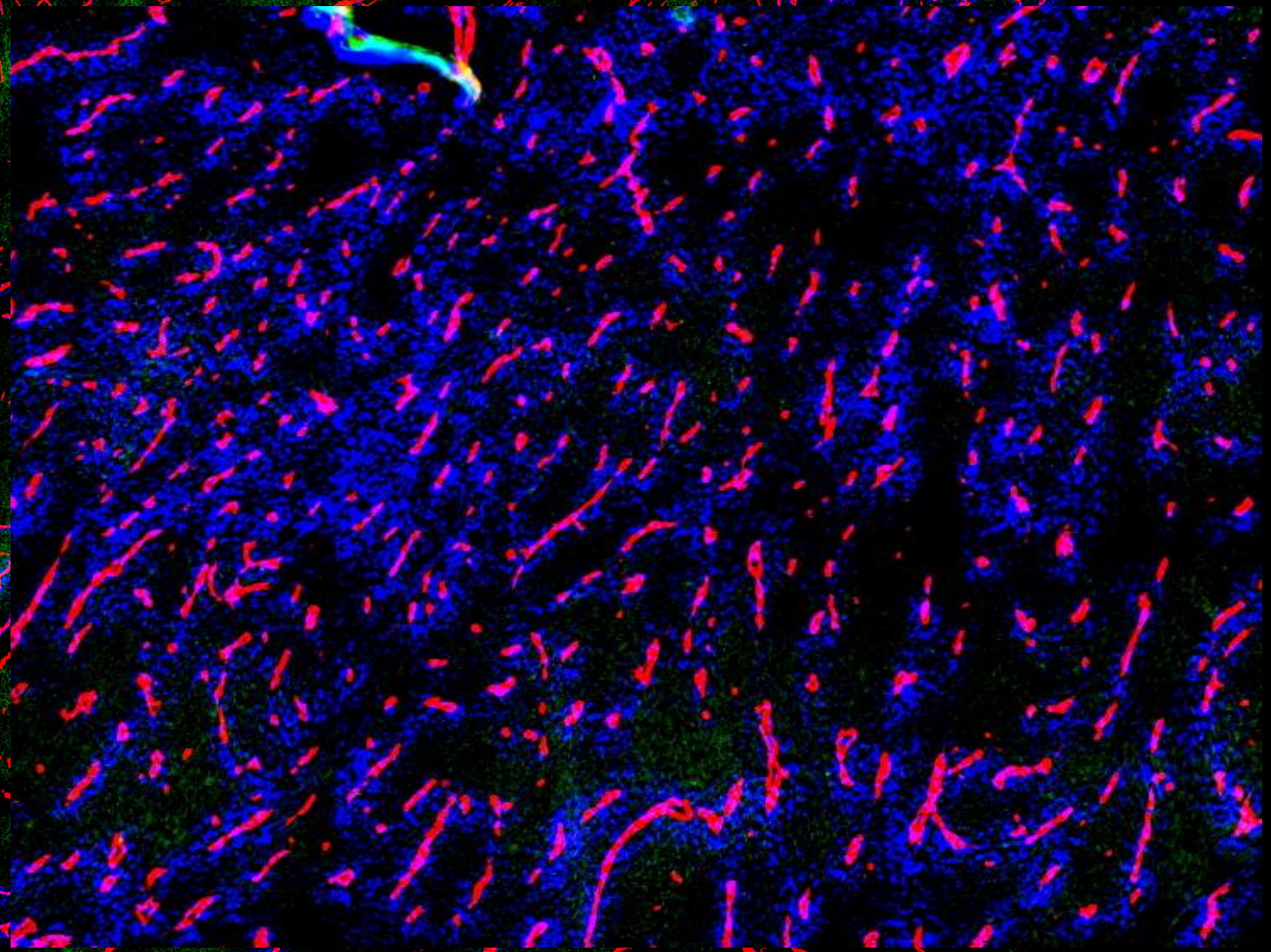
b) Spatial heterogeneity



b) Spatial heterogeneity



b) Spatial heterogeneity



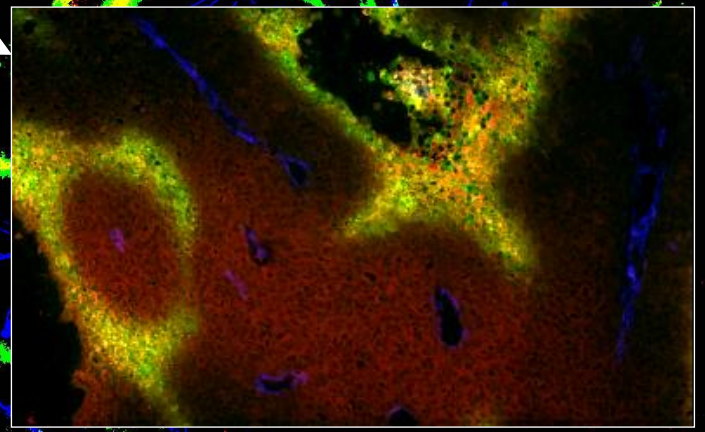
c) Heterogeneity in time

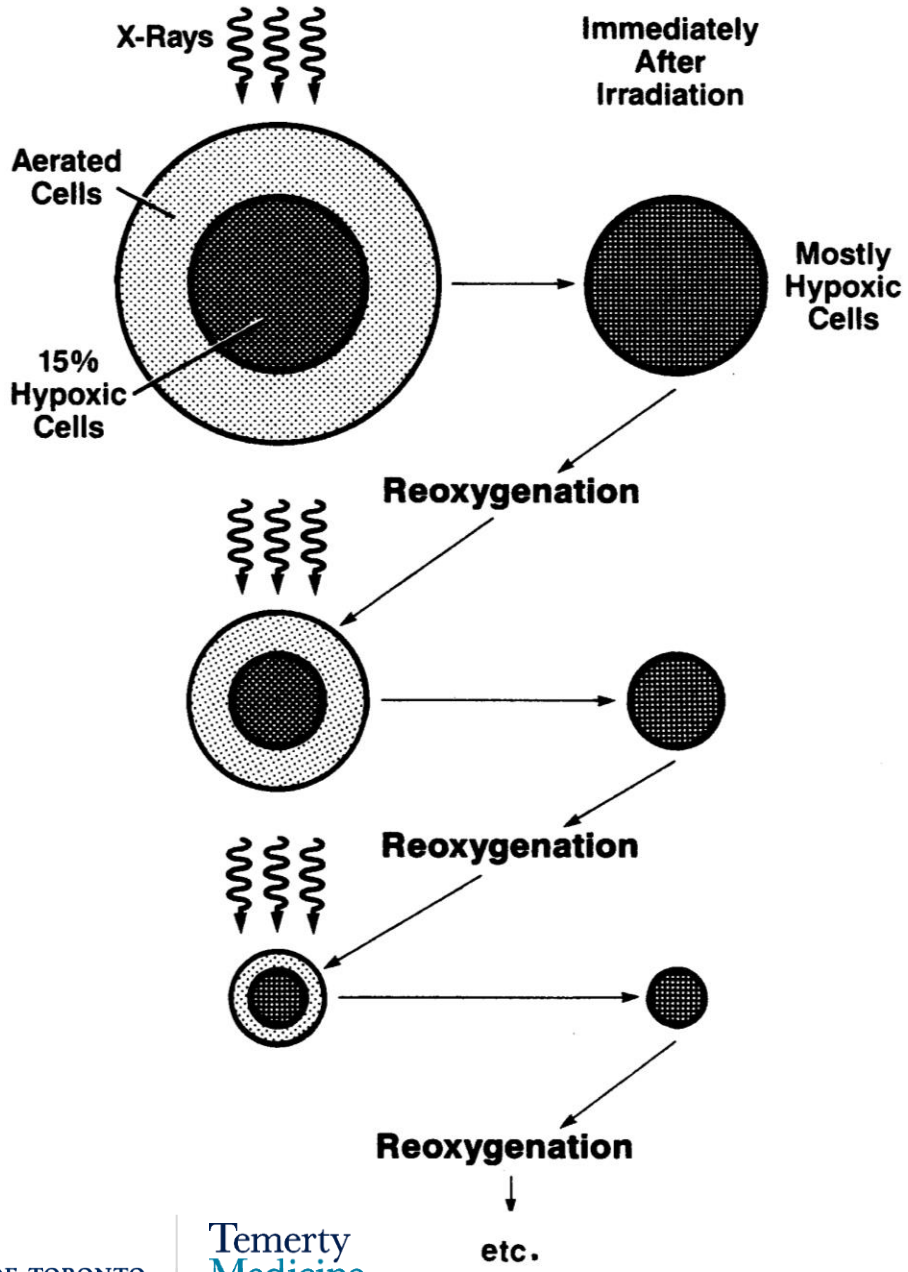
Vessels (blue)

Hypoxic marker 1: Pimonidazole (-4.5 h)

Hypoxic marker 2: *CCI-103F (-2.5h)*

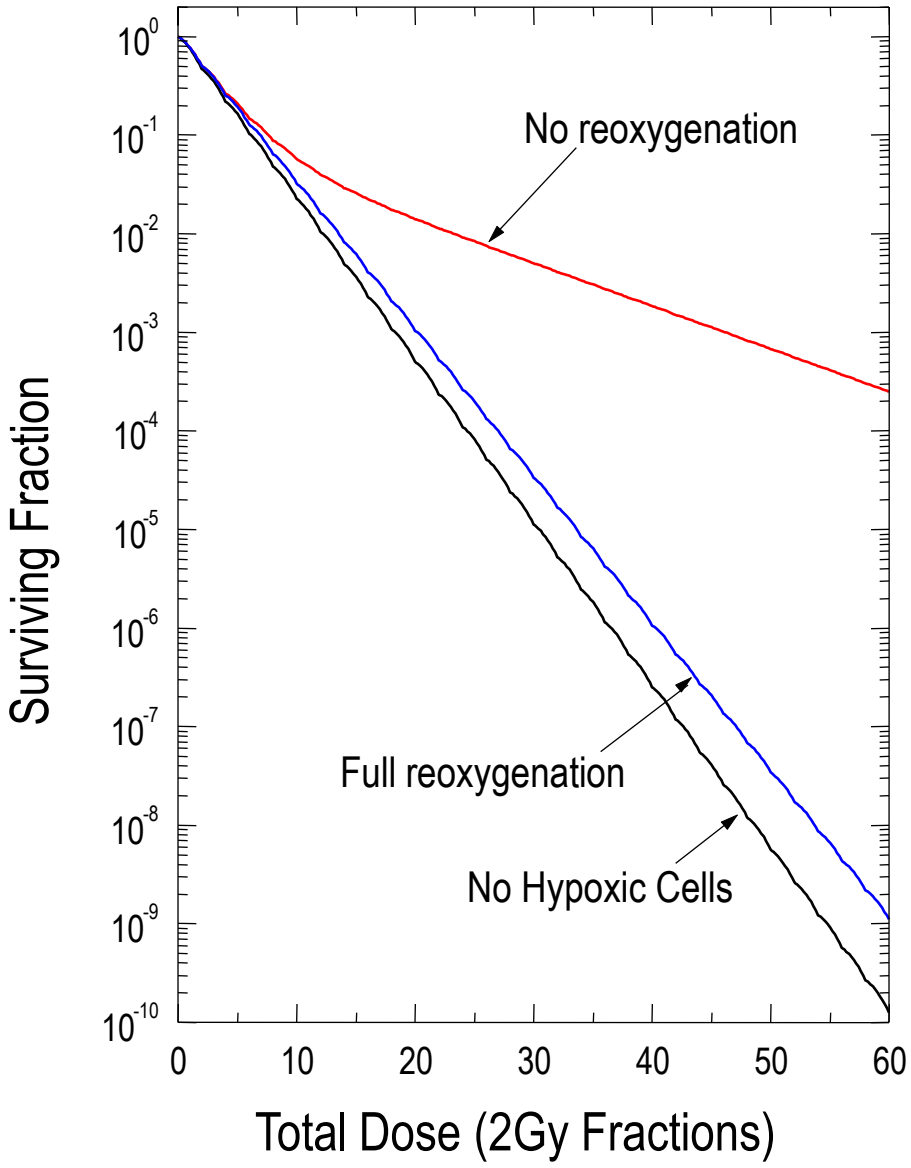
Overlap: yellow





The classic concept of reoxygenation during fractionated radiotherapy

Reoxygenation during radiotherapy

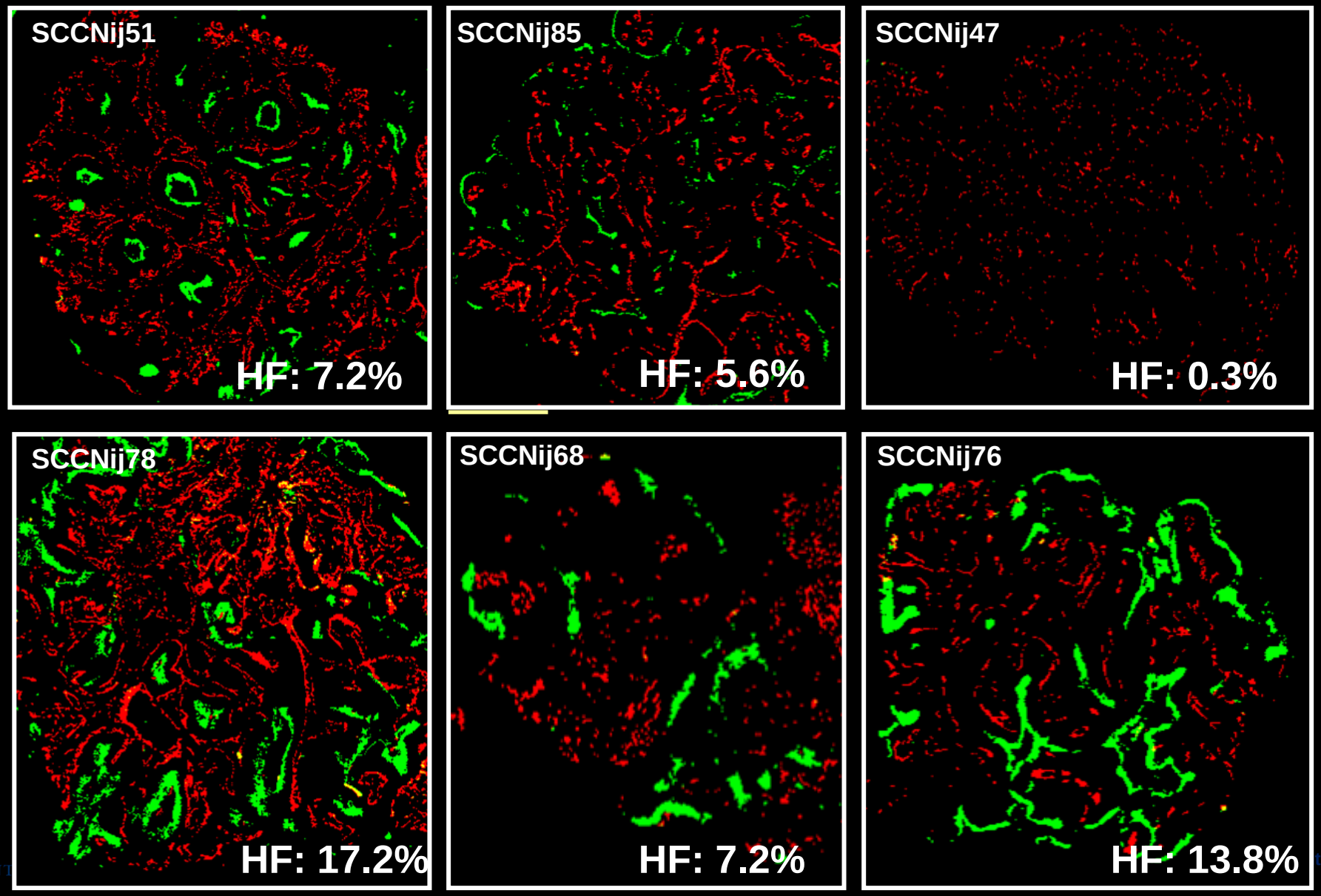


Different mechanisms of reoxygenation

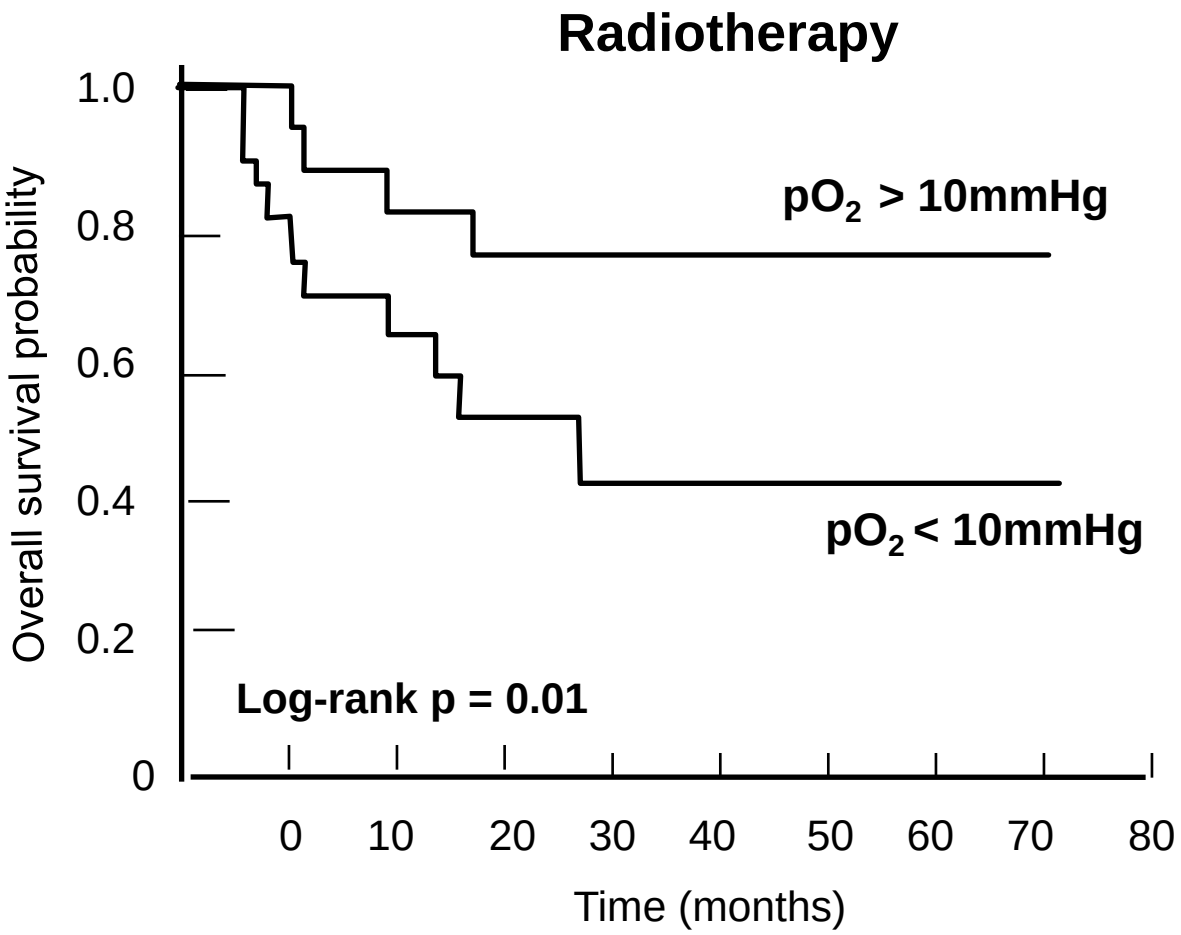
- Spontaneous:
  - Reoxygenation due to acute/cycling hypoxia. Based on changes in perfusion (min-hours) and vascular function

- Radiation-induced: Makes O_2 available to the hypoxic cells
  - Reduced oxygen consumption of radiated cells
  - Clearance of killed cells

Heterogeneity amongst patients

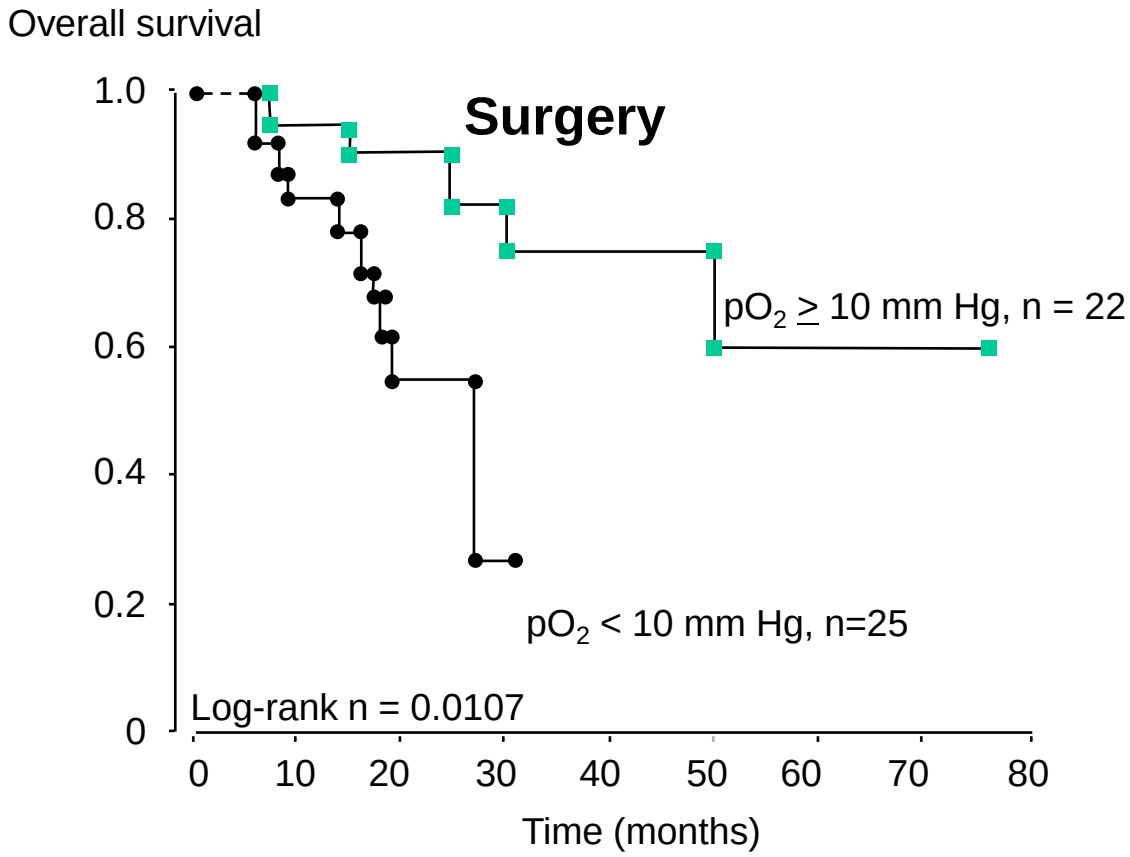


Hypoxia predicts for poor outcome



Höckel M. et al. Cancer Res 56, 4509-4515 (1996)

Hypoxia predicts for poor outcome



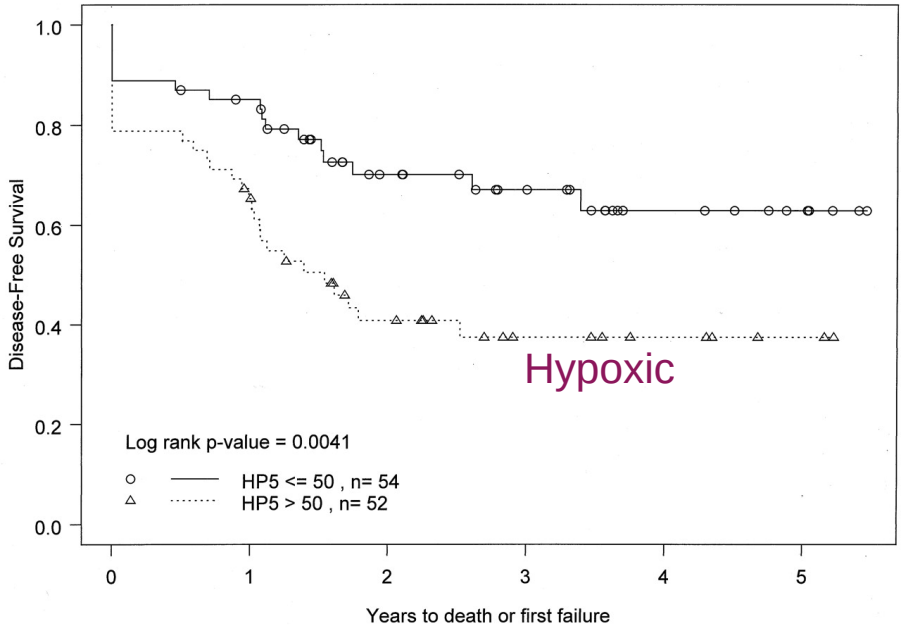
Höckel M. et al. Cancer Res 56, 4509-4515 (1996)

Cellular consequences of hypoxia

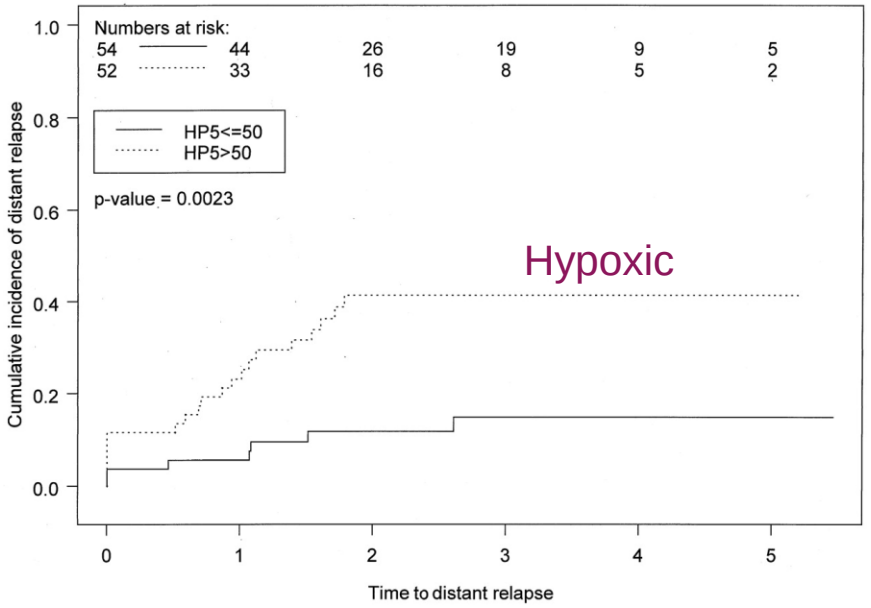
Hypoxia and treatment outcome

Cervix cancer: hypoxia predicts for overall survival

Disease-free survival



Metastasis



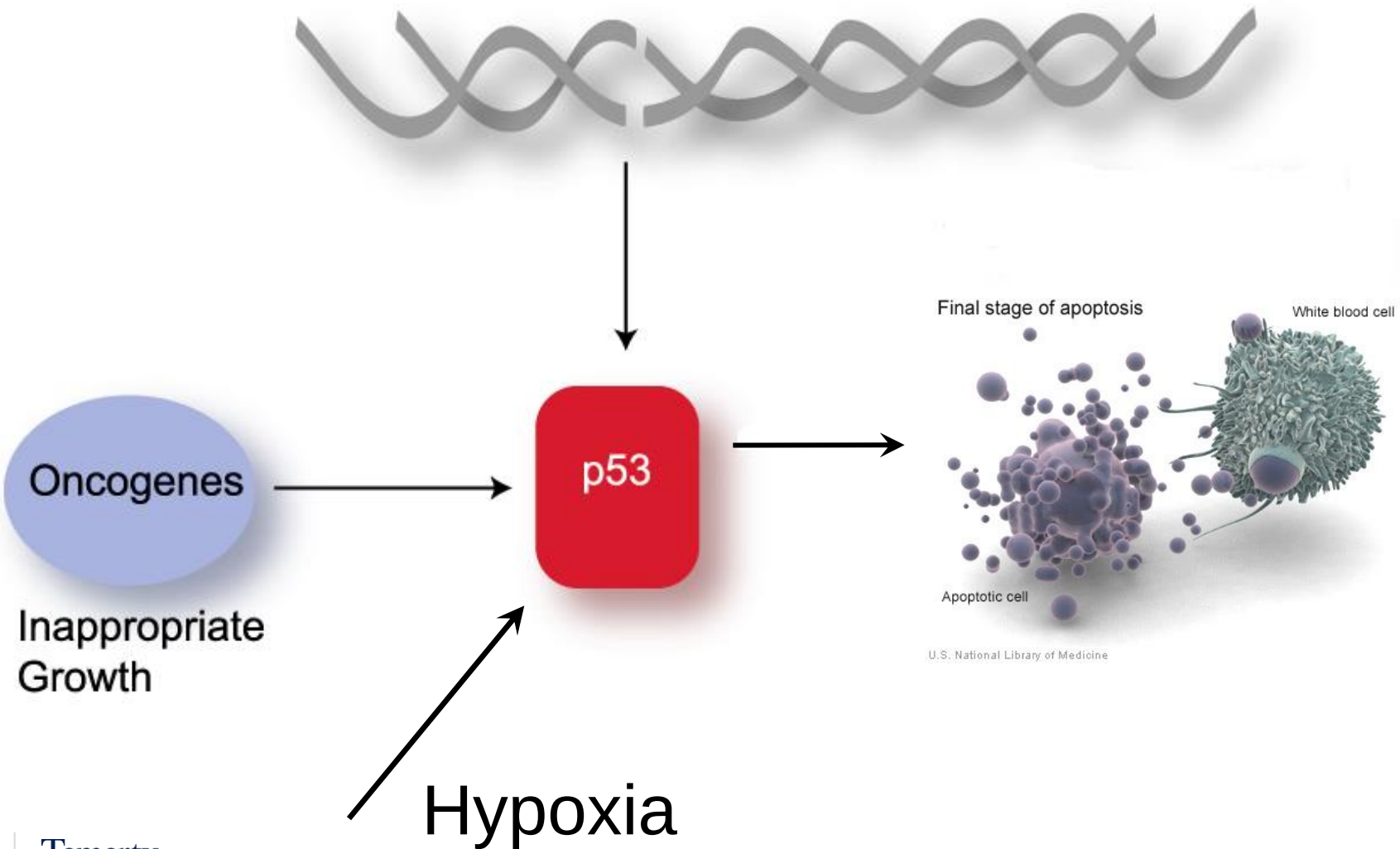
Journal of Clinical Oncology, Vol 20, No 3 (February 1), 2002: pp 680-687

Hypoxia and aggressive disease – mechanisms

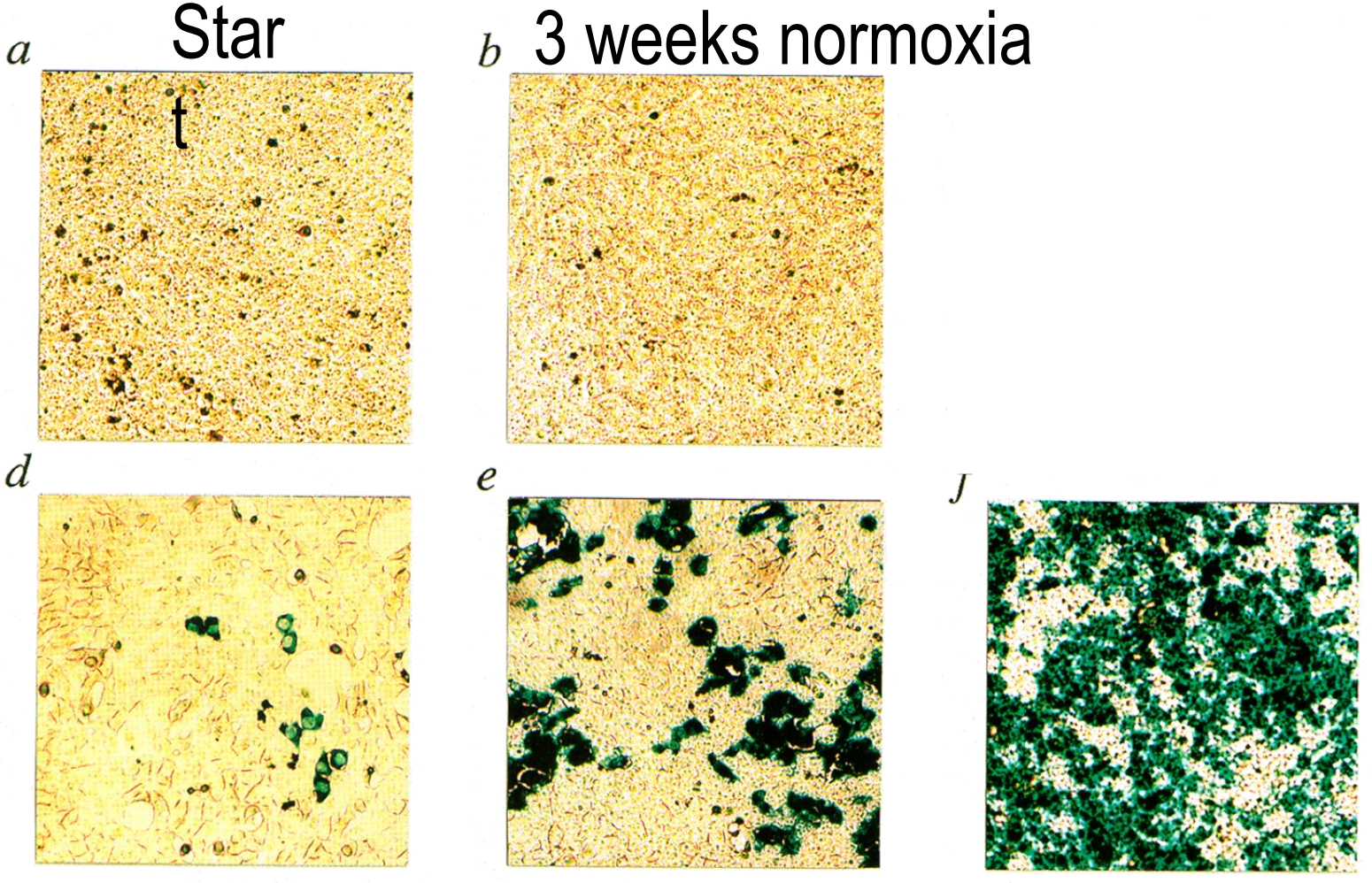
1. Tumor hypoxia can “select” for cells that are more aggressive

2. Tumor cells respond and adapt to hypoxia which alters their biological properties

1) Hypoxia mediated selection of mutant cells

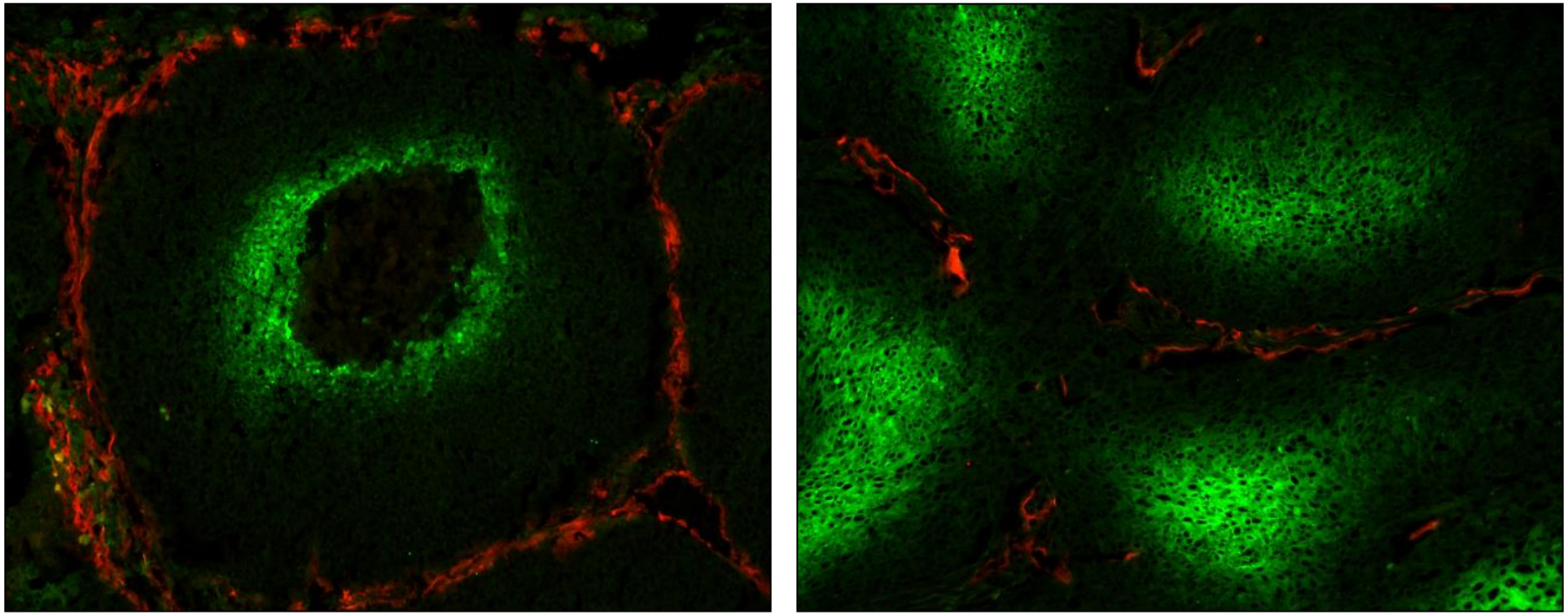


1) Hypoxia mediated selection of mutant cells



Graeber TG et al. Nature **379**(6560): 88-91, 1996

Hypoxia tolerance influences steady state levels of hypoxia

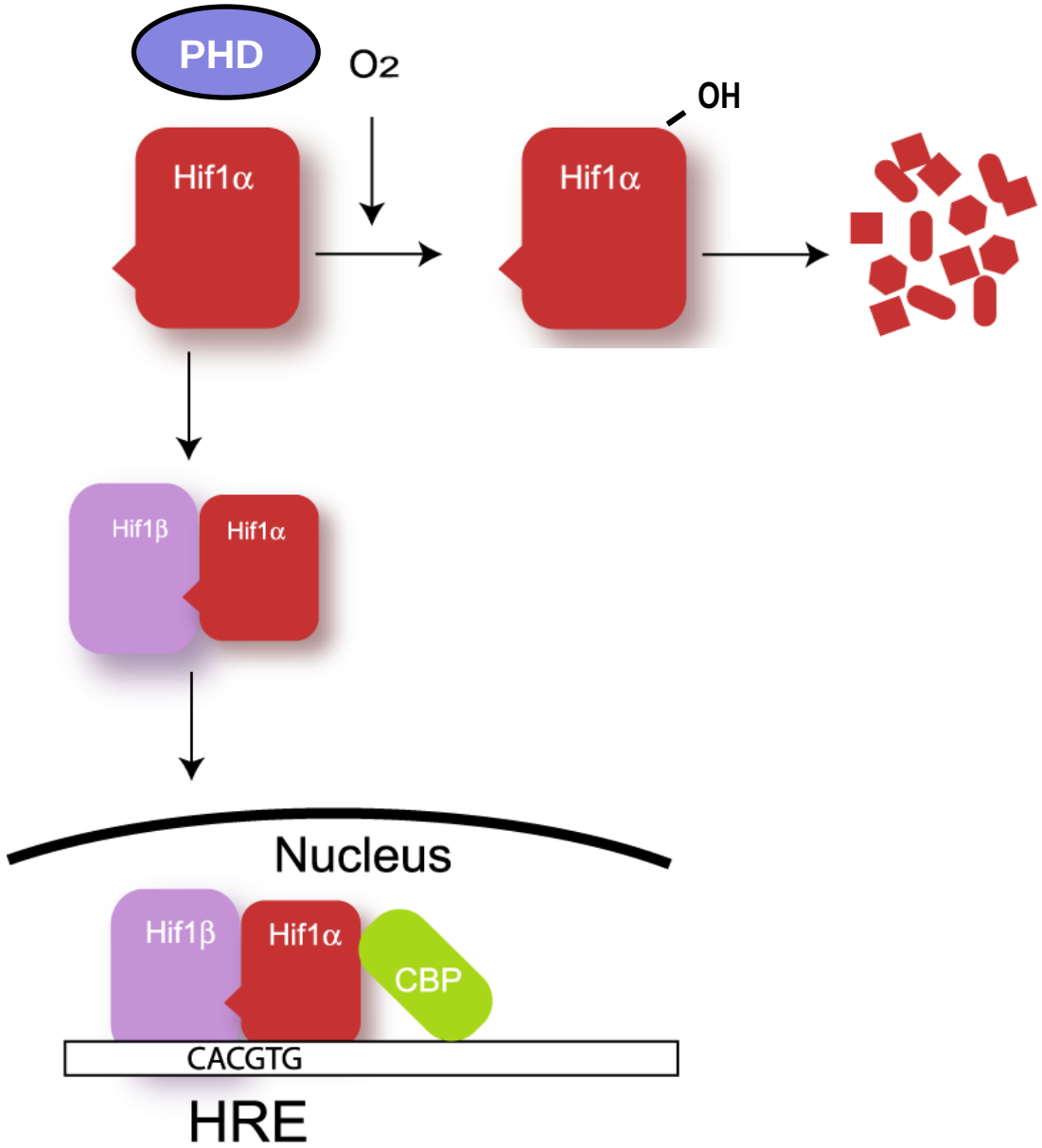


2) Hypoxia mediated adaptation

- Hypoxia causes biological changes that promote
  - Metabolic adaptation
  - Angiogenesis / vasculogenesis
  - Migration, invasion and metastasis (EMT)
  - Genetic instability
  - Stemness

Biological changes are a consequence of altered protein activity and gene expression

Oxygen sensors: HIF hydroxylases



Major HIF activated pathways

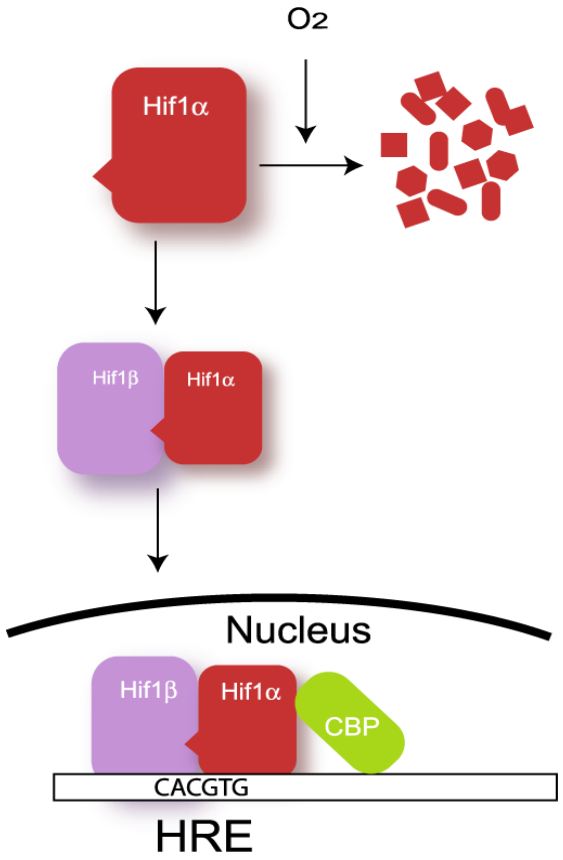
Improvement of tissue/tumor oxygenation

a) Reduce O_2 demand
- Glycolytic enzymes (PGK-1, PK-M,)
- Glucose transport (GLUTs)
- Inhibition of mitochondrial respiration

b) Improve O_2 delivery
- Angiogenesis (VEGF, VEGFRs)
- Red blood cell production (EPO)

Often overexpressed in cancer

a) VHL mutations
b) Ras, PI3K, …



Summary of tumor hypoxia

- Hypoxia is influenced by
  - Vasculature defects (chronic, acute)
  - Metabolism (consumption)
  - Tolerance mechanisms (p53, HIF, ++)
- Hypoxia is heterogeneous
  - amount, spatial, severity, time
- Hypoxia is important
  - Radiation resistance/fractionation
  - Increased aggressiveness