

Aus der Klinik für Kleintiere
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig
und
der Universitätsklinik für Strahlentherapie der Medizinischen Universität Wien

**Strahleninduzierte Veränderungen
der Expression der Transkriptionsfaktoren c-Jun und NF- κ B p50
in der Zungenschleimhaut der Maus –
Einfluss der selektiven Hemmung der Cyclooxygenase COX-2 mittels Celecoxib**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Anne Haase
aus Magdeburg

Leipzig, 2018

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Walter Brehm

Betreuer: Prof. Dr. Wolfgang Dörr

Prof. Dr. Eberhard Ludewig

Gutachter: Prof. Dr. Wolfgang Dörr, Universitätsklinik für Strahlentherapie der
Medizinischen Universität Wien

Prof. Dr. Eberhard Ludewig, Klinik für Kleintiere der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Universität Leipzig

Prof. Dr. Udo Gaipl, Strahlenklinik des Universitätsklinikums Erlangen

Tag der Verteidigung: 04.09.2018

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Literaturüberblick	4
2.1	Bedeutung von Tumorerkrankungen	4
2.2	Kopf-Hals-Tumoren.....	4
2.2.1	Kopf-Hals-Tumoren in der Humanmedizin.....	4
2.2.2	Kopf-Hals-Tumoren in der Veterinärmedizin.....	5
2.2.2.1	Kopf-Hals-Tumoren des Hundes	5
2.2.2.2	Kopf-Hals-Tumoren der Katze	5
2.2.3	Klassifikation von Kopf-Hals-Tumoren.....	6
2.3	Therapieoptionen von Kopf-Hals-Tumoren.....	7
2.3.1	Chirurgie	8
2.3.2	Chemotherapie	8
2.3.3	Immuntherapie	8
2.3.4	Radiotherapie	9
2.3.5	Strahlentherapie in der Veterinärmedizin.....	12
2.3.5.1	Maulhöhlentumoren des Hundes.....	12
2.3.5.2	Maulhöhlentumoren der Katze	16
2.4	Strahlenreaktion von Normalgeweben	19
2.4.1	Frühe Strahlenreaktionen.....	19
2.4.2	Späte Strahleneffekte.....	20
2.4.3	Konsekutive Späteffekte	21
2.5	Nebenwirkungen bei Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich	21
2.5.1	Dysphagie	21
2.5.2	Dysgeusie	22
2.5.3	Dysphonie	22
2.5.4	Radioxerostomie	22
2.5.5	Infizierte Osteoradionekrose (IORN)	23
2.5.6	Trismus	23
2.5.7	Strahlenkaries	24
2.6	Radiogene Mucositis enoralis	24
2.6.1	Klinische Bedeutung	24
2.6.2	Zeitlicher Verlauf und Pathogenese.....	25
2.6.3	Klassifizierungssysteme	25
2.6.4	Prophylaxe und Therapie	27

INHALTSVERZEICHNIS

2.6.4.1	Allgemeine Maßnahmen	27
2.6.4.2	Betreuung des Patienten.....	28
2.6.4.3	Mundhygiene	28
2.6.4.4	Antiinflammatorische und analgetische Therapie	28
2.6.4.5	Antimikrobielle Therapie.....	28
2.6.4.6	Kryotherapie.....	29
2.6.4.7	Proliferationsstimulation	29
2.6.4.8	Reduktion freier Sauerstoffradikale	30
2.6.4.9	Biologisch basierte Therapieansätze.....	30
2.7	Einflussfaktoren der Strahlenempfindlichkeit.....	31
2.7.1	Intrinsische Strahlenempfindlichkeit	31
2.7.2	Recovery (Erholung)	32
2.7.3	Repopulierung.....	33
2.7.4	Redistribution	34
2.7.5	Reoxygenierung.....	34
2.7.6	Volumeneffekt	35
2.8	Aufbau und Organisation der Mundschleimhaut.....	36
2.8.1	Allgemeine Anatomie der Mundhöhle	36
2.8.2	Anatomie der Mäusezunge	36
2.8.3	Histologischer Aufbau und proliferative Organisation der Schleimhaut der murinen Zungenunterseite	36
2.8.4	Besonderheiten der humanen Mundschleimhaut	38
2.9	Tiermodelle zur Untersuchung der radiogenen oralen Mucositis	38
2.9.1	Schleimhaut der Hamster-Backentasche	38
2.9.2	Zungenschleimhaut der Ratte	39
2.9.3	Schleimhaut der Mäuselippe	39
2.9.4	Zungenschleimhaut der Maus	39
2.10	C-Jun	40
2.11	Nuclear Factor kappa B	40
2.12	Celecoxib	41
3.	Zielstellung der vorliegenden Arbeit	44
4.	Material und Methoden	45
4.1	Versuchstiere und Haltung	45
4.2	Versuchsdurchführung	46
4.3	Versuchsprotokoll	48

INHALTSVERZEICHNIS

4.4	Histologische Untersuchungen	48
4.4.1	Präparation der Zunge und Herstellung histologischer Schnitte	48
4.4.2	Hämatoxylin-Eosin-Färbung.....	49
4.4.3	Immunhistochemie.....	49
4.5	Histologische Auswertung.....	52
4.6	Statistische Auswertung.....	52
5.	Ergebnisse	53
5.1	Zellzahlen	53
5.1.1	Zellzahlen im unbehandelten Epithel.....	53
5.1.2	Zellzahlen nach alleiniger Bestrahlung und zusätzlicher Gabe von Celecoxib.....	54
5.1.2.1	Zellzahlen nach alleiniger Bestrahlung	55
5.1.2.2	Zellzahlen nach Bestrahlung und Gabe von Celecoxib.....	55
5.2	Epitheldicke	56
5.2.1	Epitheldicke im unbehandelten Epithel.....	56
5.2.2	Epitheldicke nach alleiniger Bestrahlung und zusätzlicher Gabe von Celecoxib....	57
5.2.2.1	Epitheldicke nach alleiniger Bestrahlung	58
5.2.2.2	Epitheldicke nach Bestrahlung und Gabe von Celecoxib.....	58
5.3	C-Jun-Expression	58
5.3.1	C-Jun-Expression im unbehandelten Epithel.....	58
5.3.2	C-Jun-Expression nach alleiniger Bestrahlung und zusätzlicher Gabe von Celecoxib	59
5.3.2.1	C-Jun-Expression im Gesamtepithel	61
5.3.2.2	C-Jun-Expression in der Germinativschicht.....	65
5.3.2.3	C-Jun-Expression in der funktionellen Schicht	69
5.4	NF- κ B p50-Expression.....	72
5.4.1	NF- κ B p50-Expression im unbehandelten Epithel	72
5.4.2	NF- κ B p50-Expression nach alleiniger Bestrahlung und zusätzlicher Gabe von Celecoxib	73
5.4.2.1	NF- κ B p50-Expression im Gesamtepithel.....	75
5.4.2.2	NF- κ B p50-Expression in der Germinativschicht	80
5.4.2.3	NF- κ B p50-Expression in der funktionellen Schicht.....	85
6.	Diskussion	89
6.1	Klinischer Hintergrund: Radiogene Mucositis enoralis.....	89
6.2	Zellzahlen	90
6.3	Epitheldicke	91

INHALTSVERZEICHNIS

6.4	Expression von c-Jun.....	91
6.5	Expression von NF- κ B p50	92
7.	Zusammenfassung	93
8.	Summary	95
9.	Literaturverzeichnis.....	97
10.	Anhang	112
10.1	Zellzahlen nach fraktionierter Bestrahlung	112
10.2	Schichtdicken nach fraktionierter Bestrahlung.....	114
10.3	Immunhistochemisch gefärbte Zellen nach fraktionierter Bestrahlung.....	116
11.	Danksagung	128

Abkürzungsverzeichnis

ABC	Avidin-Biotin-Komplex
AP-1	Activator Protein-1
AK	Antikörper
aqua dest./dH ₂ O	destilliertes Wasser
BCG	Bacille Calmette-Guérin (attenuierter Lebendimpfstoff gegen Tuberkulose)
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
CR	komplette Remission (Complete Remission)
ChT	Chemotherapie
COX	Cyclooxygenase
CT	Computertomografie
CTC	Common Toxicity/Terminology Criteria
DAB	3,3'-Diaminobenzidine
E. coli	Escherichia coli
ED _x	Effektive Dosis; Dosis, bei der bei x % der Individuen ein Effekt zu erwarten ist
EGF(R)	Epidermal Growth Factor (Receptor)
EORTC	European Organisation for Research and Treatment of Cancer
FSA	Fibrosarkom
G-CSF	Granulocyte colony-stimulating factor
GD	Gesamtdosis
GM-CSF	Granulocyte macrophage colony-stimulating factor
HE	Hämatoxylin-Eosin
HNO	Hals-Nasen-Ohren
HT	Hyperthermie
HWZ	Halbwertszeit
IFN	Interferon
IHC	Immunohistochemie
IKK	I κ B-Kinase-Komplex
I κ B α	Inhibitorische κ B-Kinase- α
IL	Interleukin
IORN	infizierte Osteoradionekrose
JNK	c-Jun N-terminale Kinase
KGF	Keratinocyte Growth Factor
LENT	late effects normal tissues
LET	linearer Energietransfer, in keV/ μ m
LK	Lymphknotenmetastasen
LQ-Modell	Linear-quadratisches Modell
MEZ	Mitteuropäische Zeit
MKG	Mund-Kiefer-Gesicht
MRT	Magnetresonanztomografie
MW	Mittelwert
NCI	National Cancer Institute (USA)
NF- κ B	Nuclear Factor kappa B
NIK	NF- κ B-induzierende Kinase

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

NSAIDs	non-steroidal antiinflammatory drugs
NW	Nebenwirkungen
PEK	Plattenepithelkarzinom
PET	Positronenemissionstomografie
PFS	progressionsfreies Überleben (progression-free survival)
PG	Prostaglandin
PR	partielle Remission
rHuKGF	Rekombinante Humane Form des KGF
RT	Radiotherapie
RTemp.	Raumtemperatur
RTOG	Radiation Therapy and Oncology Group
SF	surviving fraction
syst.	systemisch
TBS	Tris-Buffered Saline
TBS-T	Tris-Buffered Saline + Tween 20
TCD _x	Tumorkontrolldosis; Dosis, bei der bei x % der Individuen eine lokale Tumorkontrolle zu erwarten ist
TLR	Toll-like receptor
TNF(R)	Tumor Necrosis Factor (Receptor)
TPA	Tissue Plasminogen Activator
TRIS	Trishydroxyaminomethan
UICC	Union internationale contre le cancer (International Union against Cancer)
WHO	World Health Organisation

1. Einleitung

In Deutschland erkranken jährlich etwa 484.000 Menschen an Krebs, davon sind 54 % Männer und 46 % Frauen (Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. 2013). Jeder vierte Einwohner stirbt an dieser Erkrankung (KARSTENS et al. 2010). Somit stehen Neoplasien nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen an zweiter Stelle der Todesursachen, bei 40-60-jährigen Frauen sogar an erster Stelle (KARSTENS et al. 2010, Statistisches Bundesamt Wiesbaden 2013). Kopf-Hals-Tumoren zählen mit 6 % zu den sechs häufigsten Krebsarten (ARGIRIS et al. 2008, Kopf-Hals-Tumorstiftung 2015). In Deutschland erkranken jährlich ca. 20.000 Menschen an Kopf-Hals-Tumoren, wobei Männer deutlich häufiger betroffen sind als Frauen (Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, Kopf-Hals-Tumorstiftung 2015). Zu den Risikofaktoren zählen insbesondere regelmäßiger Alkohol- und Nikotinkonsum (ARGIRIS et al. 2008).

In der Humanmedizin erhalten mehr als die Hälfte der Krebspatienten im Laufe ihrer Erkrankung eine Strahlentherapie. Nahezu 500.000 Menschen mit Kopf-Hals-Tumoren werden weltweit jährlich auf diese Weise therapiert (BRZOZOWSKA et al. 2015, DÖRR 2005, KARSTENS et al. 2010, ROOS 2012).

Auch bei Hund und Katze zählen Krebserkrankungen zu den häufigsten Todesursachen (EICHELBERG und SEINE 1996, GLÖWING 2013). Zirka 50 % aller Tiere über 10 Jahre sterben an den Folgen eines Malignoms (KESSLER 2012a). Aufgrund der steigenden Lebenserwartung der Haustiere werden Tierärzte zunehmend häufiger mit Neoplasien konfrontiert. Dabei wünschen viele Besitzer, unabhängig von den zu erwartenden Kosten, eine maximale medizinische Versorgung, zu der bei vielen Indikationen neben der Chirurgie und Chemotherapie auch die Radiotherapie gehört (KESSLER 2012a). Oropharyngeale Tumoren finden sich bei 0,07 % aller Hunde und 0,05 % aller Katzen (KESSLER 2012e), wobei der größere Anteil maligne ist.

In der Humanmedizin ist die konventionell fraktionierte Bestrahlung mit 5 täglichen Fraktionen von je 1,8-2,0 Gy über 6-7 Wochen das Standardregime der onkologischen Radiotherapie (ARGIRIS et al. 2008, HERRMANN et al. 2006, KARSTENS et al. 2010). Tiermedizinische Bestrahlungsprotokolle weichen z.T. davon ab, da multiple Narkosen und lange Hospitalisierungszeiten für Tiere und Besitzer oft nicht zumutbar sind. Häufig wird ambulant dreimal pro Woche mit Fraktionen von je 4 Gy nach einem Montag-Mittwoch-Freitag-Schema über 3-4 Wochen behandelt (KASER-HOTZ 2012, KOHN et al. 2012). Jedoch findet auch in der Veterinärmedizin zunehmend ein konventionelles Bestrahlungsschema Anwendung (KASER-HOTZ 2012). Bei jeder Strahlentherapie wird stets Normalgewebe in den Ein- und Austrittskanälen der Strahlung, in der unmittelbaren Umgebung und innerhalb des Tumors (z.B. Gefäß- und Bindegewebsanteile) in das Hochdosis-Volumen einbezogen. Somit muss eine bestimmte Rate an Nebenwirkungen im Rahmen einer effektiven Therapie für die Chance einer Heilung akzeptiert werden (DÖRR 2005, 2006b, 2009, 2010, DÖRR et al. 2006, KASER-HOTZ 2012).

Aufgrund des zeitlichen Verlaufs werden die Reaktionen des Normalgewebes in frühe und späte Nebenwirkungen eingeteilt. Frühe Reaktionen manifestieren sich bereits während oder innerhalb von 90 Tagen nach Beginn der Radiotherapie, während Spätfolgen erst Monate bis viele Jahre nach der Behandlung auftreten können (DÖRR et al. 2006, DÖRR 2006b, 2009, 2015).

Die Mucositis enoralis ist die bedeutendste und meist dosislimitierende frühe Strahlenfolge einer Radiotherapie von ausgedehnten Kopf-Hals-Tumoren (BONOMI und BATT 2015, MALLICK et al. 2016, BESE et al. 2007, DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2009, DÖRR 2009, HAAGEN et al. 2009, KEEFE et al. 2007). Nahezu alle Patienten entwickeln nach einer Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich einen gewissen Grad der Mukositis während ihrer Therapie (DÖRR 2009, ELTING et al. 2007, ELTING et al. 2008, FIDEL et al. 2007, KEEFE et al. 2007, MURPHY 2007). Bei bis zu 20 % der Betroffenen ist eine Unterbrechung der Behandlung notwendig, um eine Heilung der Schleimhaut zu ermöglichen (DÖRR et al. 2009, RUSSO et al. 2008). Je länger die Therapiepause ist, umso geringer ist jedoch auch die Heilungschance der Krebserkrankung (DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2009, DÖRR 2009, ELTING et al. 2008, EPSTEIN und KLASSER 2006). Zudem ist bei den meisten Patienten mit Mucositis enoralis aufgrund von Schmerzen, Schluck- und Sprechstörungen sowie sekundären Infektionen die Lebensqualität erheblich beeinträchtigt (BONOMI und BATT 2015, DÖRR et al. 2009, DÖRR 2009, ELTING et al. 2007, ELTING et al. 2008, EPSTEIN und KLASSER 2006, MALLICK et al. 2016). Im weiteren Krankheitsverlauf können Gewichtsreduktion und Dehydratation auftreten, die gegebenenfalls eine künstliche Ernährung notwendig machen (ELTING et al. 2007, RUSSO et al. 2008). In Abhängigkeit von Dauer und Schweregrad der radiogenen oralen Mukositis steigt zudem das Risiko für späte Nebenwirkungen in der Mundhöhle, wie chronische Schleimhautatrophie, Ulzera oder Osteoradionekrose (DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, DÖRR 2009, MALLICK et al. 2016). Desweiteren entstehen durch die erhöhte Hospitalisierungsrate, den Einsatz von Schmerzmitteln oder die Notwendigkeit einer speziellen Ernährung während der Behandlung einer Mucositis enoralis zusätzliche Kosten für das Gesundheitswesen bzw. in der Veterinärmedizin für den Patientenbesitzer (DÖRR et al. 2009, DÖRR 2009, EPSTEIN und KLASSER 2006, KEEFE et al. 2007, MURPHY 2007).

Zwar existiert eine Vielzahl an experimentellen Ansätzen zur Prophylaxe und Therapie der oralen Mukositis, jedoch hat bisher keine spezifische Strategie Einzug in die klinische Routine gefunden (BONOMI und BATT 2015, DÖRR et al. 2009, KEEFE et al. 2007, LALLA et al. 2006, ROSENTHAL und TROTTI 2009, TREISTER und SONIS 2007, VIET et al. 2014).

Die Strahlenreaktion der Mundschleimhaut ist ein komplexer biologischer Prozess, welcher aus mehreren Komponenten besteht (DÖRR 2006b, 2009, DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2009, LOGAN et al. 2007b, SCARDINA et al. 2010, SONIS 2007). Unter konventionell fraktionierter Bestrahlung treten in der 2.-3. Bestrahlungswoche Erytheme, Ödeme und fokale Schleimhauterosionen auf, die von einer Pseudomembran aus Zellresten und Fibrin bedeckt werden (DÖRR 2005, 2009, DÖRR et al. 2005a, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009). Im weiteren Verlauf entwickelt sich ab der 3.-4. Therapiewoche aus der fokalen Form eine

konfluente ulzerative Mukositis. Die Heilung benötigt üblicherweise mehrere Wochen nach Ende der Strahlentherapie.

An der Mucositis enoralis sind u.a. die Transkriptionsfaktoren c-Jun und NF- κ B p50 beteiligt (EGAN et al. 2004, MAO et al. 2008). C-Jun ist eine Komponente des Transkriptionsfaktors Activator Protein-1 (AP-1) (MAO et al. 2008). Es fördert die Proliferation und Differenzierung von Fibroblasten, kontrolliert die Apoptose in einer Vielzahl verschiedener Gewebe, besitzt einen mitogenen Effekt auf Keratinozyten und ist an der mesenchymal-epithelialen Interaktion sowie der Wundheilung beteiligt (LIN und DIBLING 2002, MAO et al. 2008, MATHAS 2002, MEHIC et al. 2005, NEUB et al. 2007, UEHARA et al. 2005).

Der Transkriptionsfaktor Nuclear Factor (NF-) kappa B ist verantwortlich für die Aktivierung weiterer Transkriptionsfaktoren, die Kontrolle des klonogenen Zelltods und der Apoptose in verschiedenen Normalgewebszellen, die Produktion proinflammatorischer Zytokine, die Kontrolle von Zellproliferation und -reifung (insbesondere hämatopoetischer und epithelialer Zellen) sowie die Stimulation der Angiogenese (BERTAZZA und MOCELLIN 2008, DEMSCHENKO und KUEHL 2010, FUNAKOSHI-TAGO et al. 2008, LOGAN et al. 2007b, PALMER et al. 1997, SCARDINA et al. 2010, SONIS et al. 2004a, SONIS 2004, 2009, SUN 2011).

Celecoxib zählt zu den sogenannten „non-steroidal antiinflammatory drugs“ (NSAIDs) (BERGH und BUDSBERG 2005), die ihre Wirkung durch Hemmung des Enzyms Cyclooxygenase (COX) erzielen (BERGH und BUDSBERG 2005, KIETZMANN et al. 2007, KONTUREK und PAWLIK 1986). Bei Patienten mit Mucositis enoralis verhält sich die Aktivität dieses Enzyms parallel zum Schweregrad der Schleimhautreaktion (HAAGEN et al. 2009, LALLA et al. 2010, LOGAN et al. 2007a, SONIS et al. 2004b).

In der vorliegenden Arbeit soll geklärt werden, wie die Expression dieser Proteine im Rahmen der Mucositis enoralis verändert ist. Zudem soll der Einfluss von Celecoxib auf die Strahlenreaktion und die Proteinexpression untersucht werden. Zur Untersuchung der Mucositis enoralis dient das etablierte Tiermodell der Zungenunterseite der Maus. Dabei werden die Mäuse des Wildtyp-Inzuchtstammes C3H/Neu an den Tagen 0-4 und 7-11 einer täglichen perkutanen Bestrahlung des Schnauzenbereichs mit 3 Gy/Fraktion unterzogen. Im Untersuchungszeitraum werden täglich 5 Mäuse getötet, deren Zungen entnommen und daraus histologische Schnitte hergestellt, die anschließend immunhistochemisch angefärbt und histologisch untersucht werden.

2. Literaturüberblick

2.1 Bedeutung von Tumorerkrankungen

Jährlich treten in Deutschland etwa 262.000 Krebsneuerkrankungen bei Männern und 222.000 bei Frauen auf (Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. 2013). Nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen stellen Neoplasien die zweithäufigste Todesursache in den industrialisierten Ländern dar (ACHTERBERG et al. 2006, KARSTENS et al. 2010, Statistisches Bundesamt Wiesbaden 2013).

Die Inzidenz für Tumorerkrankungen bei Hund und Katze ist vergleichbar mit derjenigen beim Menschen (GLÖWING 2013, MISDORP 2012). Etwa jedes zweite Tier über 10 Jahren stirbt an den Folgen einer Neoplasie (DORSCH 2002, KESSLER 2012a). Haustiere besitzen in der heutigen Bevölkerung einen hohen Stellenwert und ihre Lebenserwartung nimmt aufgrund der verbesserten medizinischen Versorgung stetig zu. Demzufolge werden Tierärzte zunehmend häufiger mit Krebserkrankungen konfrontiert (KESSLER 2012a). Dabei sind viele Tierbesitzer bereit, unabhängig von den zu erwartenden Kosten, eine maximale medizinische Versorgung zu tragen, zu der bei bestimmten Indikationen auch die Radiotherapie gehört (DORSCH 2002).

2.2 Kopf-Hals-Tumoren

2.2.1 Kopf-Hals-Tumoren in der Humanmedizin

Zu den Kopf-Hals-Tumoren zählen alle Tumoren in Mundhöhle (Zunge, Mundboden, Wange, Gaumen), Rachen, Kehlkopf, Nase, Nasennebenhöhlen und dem äußeren Bereich des Halses (ARGIRIS et al. 2008, Deutsche Krebsgesellschaft 2012, Deutsche Krebshilfe e.V. 2009). Die große Mehrzahl dieser Malignome sind Plattenepithelkarzinome (ARGIRIS et al. 2008, De CASTRO und GUINDALINI 2010, Deutsche Krebsgesellschaft 2012, Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, GRÖTZ et al. 2003, KARSTENS et al. 2010, PFLEGHAAR 2012). Daneben kommen Adenome, adenoidzystische Karzinome, Adenokarzinome, Lymphome, Sarkome und Speicheldrüsentumoren vor (Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, KARSTENS et al. 2010).

Kopf-Hals-Tumoren zählen mit einer Erkrankungsrate von 6 % zu den sechs häufigsten Krebsarten (ARGIRIS et al. 2008, Kopf-Hals-Tumorstiftung 2015, Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. 2013). Weltweit treten ca. 650.000 Neuerkrankungen und 350.000 Todesfälle pro Jahr auf (ARGIRIS et al. 2008, KAMANGAR et al. 2006). In Deutschland erkranken jährlich ca. 20.000 Menschen an Kopf-Hals-Tumoren (Kopf-Hals-Tumorstiftung 2015). Dies entspricht ca. 0,05 % aller Einwohner (Deutsche Krebsgesellschaft 2012). Mit einer Häufigkeit von 75 % der Neuerkrankten sind Männer deutlich häufiger betroffen als Frauen (Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, KARSTENS et al. 2010). Das Alter zum Diagnosezeitpunkt ist bei Männern durchschnittlich 66 Jahre, bei Frauen 70 Jahre (ARGIRIS et al. 2008, Deutsche Krebsgesellschaft 2012, Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. 2013).

Zu den Risikofaktoren, an einem Kopf-Hals-Tumor zu erkranken, zählen regelmäßiger Alkohol- und Nikotinkonsum, welche nach ARGIRIS et al. 2008 bei 75 % aller Patienten mit Plattenepithelkarzinomen vorliegen. Auch chronische Wunden an der Mundschleimhaut und schlechte Mundhygiene sowie Infektionen mit dem humanen Papillomavirus (HPV) können eine entscheidende Rolle in der Krebsentstehung spielen (ARGIRIS et al. 2008, Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, Kopf-Hals-Tumorstiftung 2015). Der regelmäßige Konsum von Früchten und Gemüse hingegen soll mit einem reduzierten Risiko für die Entstehung von Plattenepithelkarzinomen assoziiert sein (ARGIRIS et al. 2008).

Die durchschnittliche 5-Jahres-Überlebensrate liegt bei ca. 50 % (Kopf-Hals-Tumorstiftung 2015). Unabhängig von der Therapiestrategie haben Frauen eine bessere Überlebensrate als Männer (KARSTENS et al. 2010).

2.2.2 Kopf-Hals-Tumoren in der Veterinärmedizin

Etwa 0,07 % aller Hunde und 0,05 % aller Katzen erkranken im Laufe ihres Lebens an einer oropharyngealen Neoplasie, wobei der größere Anteil maligne ist. Betroffen sind Tiere jeglicher Altersstufe, jedoch gehäuft mit einem Alter über 8 Jahren (KESSLER 2012e). Beim Tierarzt vorstellig werden die Patienten meist aufgrund einer sicht- oder tastbaren Umfangsvermehrung im Bereich des Kiefers oder anderer Lokalisationen im Kopf-Hals-Bereich. Auffallend für den Besitzer können weiterhin starker Mundgeruch, vermehrter Speichelfluss, Probleme beim Schluckvorgang, eine reduzierte Futteraufnahme mit entsprechendem Gewichtsverlust, aber auch eine abweichende Stellung, der Verlust oder die Lockerung eigentlich gesunder Zähne sein (KESSLER 2012e).

2.2.2.1 Kopf-Hals-Tumoren des Hundes

Unter allen beim Hund vorkommenden Tumoren sind 7 % im Oropharynx lokalisiert. Das Risiko, an einer oralen Neoplasie zu erkranken, ist für Rüden mehr als doppelt so hoch als für Hündinnen. Neoplasien der Maulhöhle beim Hund sind zu 44 % gutartig. Mit 30 % stellen Epuliden (Tumoren peridontalen Ursprungs) den größten Anteil dieser Tumoren dar, gefolgt vom oralen Papillom (KESSLER 2012e). Die häufiger vorkommenden oropharyngealen Malignome stellen 5,4 % aller malignen caninen Neoplasien dar. Am häufigsten werden Melanome, Plattenepithelkarzinome und Fibrosarkome diagnostiziert (KESSLER 2012e). Das maligne Melanom ist dabei mit 30 % am häufigsten (BERGMAN 2007, KESSLER 2012e, SEO et al. 2014). An zweiter Stelle aller caninen Maulhöhlentumoren steht das Plattenepithelkarzinom. Man unterscheidet zwischen tonsillären und nicht-tonsillären Plattenepithelkarzinomen (KESSLER 2012e).

2.2.2.2 Kopf-Hals-Tumoren der Katze

Mit 10 % aller Neoplasien stehen Tumoren der Maulhöhle nach denen der lymphatischen Organe, der Haut und der Mamma an vierter Stelle der Häufigkeit bei der Hauskatze (KESSLER 2012e). Das durchschnittliche Alter bei Erkrankung liegt bei etwa 10 Jahren. Feline orale Neoplasien sind zu 61 % Plattenepithelkarzinome, zu 13 % Fibrosarkome und zu 8 % fibromatöse peridontale Epuliden (KASER-HOTZ 2012, KESSLER 2012e). Die Prognose für

die betroffenen Tiere ist schlecht, mit einer mittleren Überlebensrate von 46-142 Tagen, unabhängig von der Therapie. Dies liegt nicht zuletzt daran, dass die Erkrankung zum Zeitpunkt der Diagnose in der Regel fortgeschritten ist (HAYES et al. 2007).

2.2.3 Klassifikation von Kopf-Hals-Tumoren

Die Klassifikation von Tumoren ist die Grundlage für die Entscheidung bezüglich der Therapie. Die Einteilung beruht auf der klinischen Untersuchung und - je nach Art und Lokalisation des Tumors - auf der radiologischen Beurteilung mittels Ultraschall, Röntgen, Computertomografie (CT), Magnetresonanztomografie (MRT), Positronenemissionstomografie (PET) oder Szintigrafie sowie Endoskopie und Biopsie und/oder Feinnadelaspiration (ARGIRIS et al. 2008, BOMHARD 2012, Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, KESSLER 2012d, 2012e, TASSANI-PRELL 2012).

Die Klassifikation der International Union against Cancer (UICC) nach dem TNM-System (Tab. 1) schließt Eigenschaften und Ausdehnung des Primärtumors (T), Befall der regionären Lymphknoten (N) und das Vorhandensein von Metastasen (M) in standardisierter Form ein (WITTEKIND und MEYER 2010). Je nach Ausdehnung und Invasivität des Primärtumors wird dieser mit T0 (kein Primärtumor vorhanden oder Primärtumor chirurgisch entfernt) bis T4 (malignes Lymphom bis T5) klassifiziert, wobei ein höheres Stadium eine fortgeschrittenere lokale Erkrankung anzeigt. Sind bereits ipsilaterale (N1) oder kontralaterale bzw. beidseits die regionären Lymphknoten (N2) betroffen, so wird dies durch die „N“-Einstufung angezeigt (Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, KARSTENS et al. 2010, KESSLER 2012d). Eine Verwachsung der befallenen Lymphknoten mit der Peripherie zeigt die Klassifikation N3 an (DORSCH 2002). M0 bzw. M1 beschreibt das Fehlen bzw. Vorhandensein von Fernmetastasen (Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, KARSTENS et al. 2010, KESSLER 2012d). In Bezug auf den individuellen Patienten dient dieses Klassifikationssystem zur Erfassung und Dokumentation der Erkrankung sowie zur Unterstützung bei der Therapieplanung und Prognosestellung.

Auch in der Veterinärmedizin besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen Tumorstadium und Therapiestrategie sowie der Prognose. Deshalb ist auch hier eine standardisierte Klassifizierung angezeigt. Das TNM-System wird darum von der Veterinary Cancer Society empfohlen (KESSLER 2012d).

Tab. 1: Klassifikation von Kopf-Hals-Tumoren nach dem TNM-System der WHO (WITTEKIND und OBERSCHMID 2010)

T (Tumorausdehnung)	T0: kein Anhalt für Primärtumor
	T1: Tumor < 2 cm
	T2: 2 cm < Tumor < 4 cm
	T3: Tumor > 4 cm
N (Nodes, Lymphknoten)	T4: Infiltration benachbarter Strukturen (Knochen, Muskel, Halsweichteile, Haut etc.)
	N0: keine regionären Lymphknotenmetastasen (LK)
	N1: solitäre ipsilaterale LK ≤ 3 cm
	N2a: solitäre ipsilaterale LK > 3 cm, aber < 6 cm
	N2b: multiple ipsilaterale LK < 6 cm
M (Metastasen)	N2c: bi-/kontralaterale LK < 6 cm
	N3: LK > 6 cm
	M0: keine Fernmetastasen
	M1: Fernmetastasen vorhanden

2.3 Therapieoptionen von Kopf-Hals-Tumoren

Grundsätzlich kann das primäre Ziel der Tumorthherapie die Heilung des Patienten (kurativ) oder die Eindämmung der Symptomatik und Verbesserung der Lebensqualität für einen begrenzten Zeitraum (palliativ) sein (ARGIRIS et al. 2008, HERRMANN et al. 2006). Die Entwicklung einer optimalen Therapiestrategie basiert auf der Integration verschiedener Disziplinen (KESSLER 2012d). In der Humanmedizin gehört dazu im Kopf-Hals-Bereich die enge Kooperation von Radiologen, HNO- und MKG-Ärzten, Radio- und internistischen Onkologen, plastischen Chirurgen und Zahnärzten. Dabei müssen Tumorgöße, -stadium, Resektionsmöglichkeit, Patientenfaktoren (Allgemeinzustand, Begleiterkrankungen, mögliche Organerhaltung, Compliance/Therapiewunsch) berücksichtigt werden (ARGIRIS et al. 2008). Die Wirkung einer onkologischen Therapie kann eine Remission (Tumorschrumpfung), d.h. eine makroskopische Verkleinerung des Tumors, sein. Diese kann partiell (Volumenminderung um mindestens 50 %) oder komplett (keine makroskopisch nachweisbaren Tumorreste) sein. Ziel der lokalen kurativen Therapie ist jedoch die permanente lokale Tumorkontrolle bzw. Rezidivfreiheit. Als Rezidiv gilt ein gleichartiger Tumor am Ort oder in den direkten Lymphabflusswegen des ursprünglichen Tumors. Der prozentuale Anteil an Patienten, welcher ein bestimmtes Zeitintervall nach der Therapie (z.B. 5 Jahre) überleben, wird als Überlebensrate bezeichnet. Eine weitere Möglichkeit zur Beurteilung des Therapieerfolges ist die mittlere Überlebensdauer in der Patientenpopulation (HERRMANN et al. 2006).

Die wichtigsten Eckpfeiler der Krebstherapie stellen Chirurgie, Chemo- und Radiotherapie als Einzeltherapie oder in Kombination dar (Deutsche Krebshilfe e.V. 2009). In der Human- als auch in der Veterinärmedizin steht dabei die chirurgische Entfernung des Tumors an erster Stelle. Jedoch werden auch in der Veterinärmedizin zur Verbesserung des Therapieerfolgs

zunehmend weitere Therapieformen, deren Verfügbarkeit progressiv steigt, eingesetzt, da Besitzer durch die zunehmend engere Bindung zum Tier einen größeren Heilungswunsch entwickeln und deshalb zur Übernahme höherer Kosten bereit sind (KOHN et al. 2012).

2.3.1 Chirurgie

Ziel kurativer chirurgischer Maßnahmen ist die vollständige Entfernung des Tumors inklusive aller mikroskopischen Tumoranteile und eventuell vorhandener Metastasen. An zweiter Stelle steht die plastische Rekonstruktion. Diese muss ggf. in separaten OPs durchgeführt bzw. abgeschlossen werden (ARGIRIS et al. 2008, Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, KESSLER 2012b, KOHN et al. 2012). Der zum kurativen Vorgehen nötige Umfang des Eingriffs kann durch die anatomische Ausdehnung des Tumors und die Notwendigkeit der Organ- bzw. Gewebeerhaltung limitiert werden (ARGIRIS et al. 2008).

Bei der zytoreduktiven Chirurgie soll eine Reduktion der Tumormasse erreicht werden. So kann die Wirksamkeit anderer Therapieformen verbessert werden. Eine alleinige palliative Chirurgie führt zur Verbesserung der Lebensqualität durch Linderung der neoplasieassoziierten Symptome, meist ohne Verlängerung der Überlebenszeit (KESSLER 2012b).

2.3.2 Chemotherapie

In der Veterinärmedizin werden zunehmend Chemotherapeutika zur Behandlung neoplastischer Erkrankungen, insbesondere zur Therapie von Metastasen und Primärtumorresten in Kombination mit anderen Therapien eingesetzt (KESSLER 2012c, KOHN et al. 2012, NEIGER 2012a). Der Effekt von Chemotherapeutika beruht auf der Hemmung der Proliferation (zytostatisch) bzw. der Abtötung (zytotoxisch) von Zellen, somit sind sowohl Tumor- als auch Normalgewebe betroffen. Einen limitierenden Faktor stellt deshalb die Toxizität der angewendeten Präparate dar (KESSLER 2012c).

2.3.3 Immuntherapie

In den letzten Jahren hat in der Onkologie neben der Chirurgie, Chemo- und Radiotherapie die Immuntherapie zunehmend an Bedeutung gewonnen (NEIGER 2012b).

Darunter werden zwei verschiedene Therapieansätze verstanden - einerseits die Modulation des körpereigenen Immunsystems, andererseits die biologisch-zielgerichtete Therapie mit Antikörpern (siehe Kap. 2.6.4.9). Die Modulation des Immunsystems kann sowohl aktiv als auch passiv erfolgen (NEIGER 2012b, SADAM 2014). Unter der aktiven Form wird die Gabe von Adjuvantien, TLR (Toll-like-Rezeptor)-Liganden, BCG (Bacille Calmette-Guérin) und präventiven Vakzinen aus abgetöteten Tumorzellen, Zellextrakten, gereinigten oder rekombinanten Antigenen zusammengefasst (SADAM 2014). Zur passiven Therapie zählen die Behandlung mit Zytokinen (IFN- α , IFN- γ , IL-2, GM-CSF, G-CSF, TNF (Tumor necrosis factor), lymphokin-aktivierten Killerzellen und der Transfer von T-Zellen (LOSCH 2001, NEIGER 2012b, SADAM 2014).

2.3.4 Radiotherapie

Die Radiotherapie stellt neben der Chirurgie und Chemotherapie eine wirkungsvolle onkologische Behandlungsmöglichkeit dar (DÖRR 2005, Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. 2013, HERRMANN et al. 2006, KARSTENS et al. 2010, KASER-HOTZ 2012, ROOS 2012). Mehr als jeder zweite Krebspatient erhält in der Humanmedizin im Laufe seiner Erkrankung eine Strahlentherapie. Nahezu 500.000 Menschen mit Kopf-Hals-Tumoren werden weltweit jährlich auf diese Weise therapiert (BRZOZOWSKA et al. 2015, KARSTENS et al. 2010, ROOS 2012). Während sich in der Kleintiermedizin diese onkologische Therapieform in den USA rasch entwickelte, etablierte sie sich in Europa langsamer, jedoch finden sich auch hier zunehmend Einrichtungen an Universitäten oder privaten Kliniken (BUCHHOLZ und LUDEWIG 2009, KASER-HOTZ 2012).

Im Vorfeld einer Bestrahlung muss der Tumor präzise lokalisiert und in seiner dreidimensionalen Ausdehnung erfasst werden. Hierfür kommen Palpation, Ultraschall-, Röntgen-, CT-, PET- und MRT-Untersuchungen in Betracht. Die Strahlentherapieplanung erfolgt mit entsprechenden Planungssystemen (KASER-HOTZ 2012).

Generell kann die Bestrahlung von außerhalb des Körpers (Teletherapie) oder mit direktem Kontakt zwischen Strahlenquelle und Zielstruktur (Brachytherapie) erfolgen (KARSTENS et al. 2010). Nur für ganz spezifische Indikationen kommt eine Ganzkörperbestrahlung zum Einsatz (KASER-HOTZ 2012). Je nach zeitlichem Bezug zu anderen Therapieformen wird neben der alleinigen Strahlentherapie eine adjuvante (im Anschluss an andere Therapieoptionen), neoadjuvante (im Vorfeld) und simultane (gleichzeitige) Radiotherapie unterschieden.

Patienten mit kleinen, schnell wachsenden Tumoren ohne Metastasierung können als Alternative zur alleinigen Chirurgie oder bei fehlender Resektabilität einer alleinigen Bestrahlung unterzogen werden (HERRMANN et al. 2006, KASER-HOTZ 2012, KOHN et al. 2012). Die Vorteile liegen dabei im Vermeiden einer dauerhaften Verunstaltung des Betroffenen und der Möglichkeit, regionäre Lymphknoten in das Bestrahlungsfeld mit einzubeziehen (KASER-HOTZ 2012, KESSLER 2012e). Eine präoperative Strahlentherapie dient der Tumorverkleinerung zur Ermöglichung bzw. Verbesserung der operativen Optionen (KARSTENS et al. 2010). Ziel einer postoperativen Bestrahlung ist die Vernichtung verbliebener Tumorzellen (HERRMANN et al. 2006, KARSTENS et al. 2010, KOHN et al. 2012).

Um Wundheilungsstörungen zu vermeiden, muss ein entsprechendes Intervall zwischen Operation und Bestrahlung eingehalten werden (KARSTENS et al. 2010). Im Vordergrund einer palliativen Strahlentherapie steht die Reduktion neoplasiebedingter Symptome mittels Bestrahlung eines deutlich eingeschränkten Zielvolumens mit relativ niedrigen Gesamtdosen, sodass nur wenig frühe Nebenwirkungen auftreten und die Lebensqualität erhalten oder sogar verbessert und eventuell eine Lebensverlängerung ermöglicht wird (KARSTENS et al. 2010, KESSLER 2012e). Ziel der kurativen Strahlentherapie hingegen ist die lokale Tumorkontrolle, d.h. die Vernichtung aller klonogener Tumorzellen und dauerhafte Rezidivfreiheit (HERRMANN et al. 2006).

Bei jeder effektiven Radiotherapie müssen gesunde Gewebe mit signifikanten Dosen exponiert werden. Hierzu zählen Normalgewebe in den Ein- und Austrittskanälen der Strahlung, innerhalb des Tumors (z.B. Gefäß- und Bindegewebsanteile) und dessen unmittelbarer Umgebung. Somit wird im Rahmen einer effektiven, kurativen Strahlentherapie stets eine gewisse Rate an Nebenwirkungen im Normalgewebe akzeptiert (DÖRR 2005, 2009, 2010). Eine besondere Form der Radiotherapie stellt die Brachytherapie dar, bei der definitionsgemäß der Abstand zwischen Strahlenquelle (umschlossene Radionuklide) und zu exponierenden Strukturen 10 cm nicht überschreitet (KASER-HOTZ 2012). Dabei kann die Strahlenquelle direkt in das Tumorgewebe eingebracht (interstitielle Brachytherapie) oder in die unmittelbare Umgebung der Neoplasie platziert werden (intrakavitäre Brachytherapie, Oberflächentherapie). Die sogenannte „Nachladetechnik“ (Afterloading) beinhaltet die Platzierung eines Applikators mit nachfolgender ferngesteuerter Insertion einer Strahlenquelle. Durch die geringe Reichweite der verwendeten Strahlung (i.d.R. β -Strahlung) ermöglicht diese Therapieform eine hohe lokale Strahlendosis bei weitestgehender Schonung des umliegenden Gewebes (KARSTENS et al. 2010, SCHMOLL et al. 2006). Die Brachytherapie bietet eine preiswerte Behandlungsoption bei Maul- und Nasenhöhrentumoren in der Veterinärmedizin (KASER-HOTZ 2012).

Je nach Tumorentität, -stadium und -lokalisierung kommen bei der Teletherapie verschiedene Bestrahlungsprotokolle zum Einsatz (Tab. 2). Man unterscheidet die konventionelle, hyperfraktionierte, akzelerierte, akzeleriert-hyperfraktionierte und hypofraktionierte Radiotherapie (DÖRR et al. 1996).

Tab. 2: Zusammenfassung der verschiedenen Fraktionierungsprotokolle in der Strahlentherapie (DÖRR et al. 1996)

Fraktionierungsprotokoll	Dosis pro Fraktion (Gy)	Fraktionen (Woche)	Wochendosis	Gesamtdosis* (Gy)	Gesamtdauer*
konventionell	1,8-2,0	5	9-10	1	1
hyperfraktioniert	1-1,2	↑	<12,0	=	=
akzeleriert	1,8-2,0	↑	>12,0	=/↓	↓
akzeleriert-hyperfraktioniert	1-1,6	↑	>12,0	=/↓	↓
hypofraktioniert	>3,0	variabel	variabel	↓	↓

* in Relation zur konventionell fraktionierten Bestrahlung

Konventionelle Fraktionierung

Die konventionelle Fraktionierung gilt als Standardregime der onkologischen Radiotherapie in der Humanmedizin. Es werden tägliche Einzeldosen von 1,8-2,0 Gy an 5 Wochentagen verabreicht. Daraus ergibt sich eine wöchentliche Dosis von 9-10 Gy, sodass über 6-7 Wochen eine kurative Gesamtdosis von 60-70 Gy erreicht wird (ARGIRIS et al. 2008, DÖRR et al. 1996, HERRMANN et al. 2006, KARSTENS et al. 2010).

Hyperfraktionierung

Bei der hyperfraktionierten Radiotherapie werden bei konventioneller Gesamtbehandlungszeit und Gesamtdosis eine erhöhte Anzahl an Einzeldosen zu je 1,0-1,2 Gy verabreicht. Typischerweise werden an 5 Wochentagen täglich 2 Fraktionen appliziert (ABE und URANO 1990, ARGIRIS et al. 2008, DÖRR et al. 1996, HERRMANN et al. 2006, KARSTENS et al. 2010). Der Vorteil des Protokolls liegt in der Reduktion von Spätnebenwirkungen in Folge von Erholungsprozessen (ARGIRIS et al. 2008, BONNER et al. 2006, DÖRR et al. 1996, HERRMANN et al. 2006).

Akzelerierte Fraktionierung

Unter akzelerierter Strahlentherapie wird die Applikation der konventionellen Gesamtdosis in einer kürzeren Gesamttherapiezeit mittels erhöhter Wochendosis verstanden. Realisiert wird dies beispielsweise über die Bestrahlung auch am Wochenende oder einer zweiten täglichen Fraktion mit konventioneller Dosis (HERRMANN et al. 2006, KARSTENS et al. 2010). Ziel dieses modifizierten Protokolls ist die Verbesserung der Tumorkontrolle. Jedoch geht dies einher mit erhöhten frühen Nebenwirkungen, sodass die reine akzelerierte Fraktionierung selten praktische Anwendung findet (BESE et al. 2007, BONNER et al. 2006, DÖRR et al. 1996).

Akzelerierte Hyperfraktionierung

Um die Vorteile der Akzelerierung und Hyperfraktionierung miteinander zu verbinden, wurde das Protokoll der akzelerierten Hyperfraktionierung entwickelt. Bei diesem Protokoll werden 2-3 tägliche Fraktion von 1,0-1,6 Gy bei erhöhter Wochen- und konstanter oder reduzierter Gesamtdosis innerhalb einer verkürzten Therapiezeit verabreicht (ARGIRIS et al. 2008, DÖRR et al. 1996).

Hypofraktionierung

Unter Hypofraktionierung wird die Applikation einer reduzierten Gesamtdosis von 40-55 Gy innerhalb einer verkürzten Gesamtbehandlungszeit von ca. 3 Wochen verstanden. Üblicherweise werden bei diesem Bestrahlungsprotokoll pro Woche maximal 5 Fraktionen appliziert (DÖRR et al. 1996, KARSTENS et al. 2010). Aufgrund der auf mehr als 2 Gy erhöhten Dosis je Fraktion treten bei Hypofraktionierung häufiger chronische Nebenwirkungen auf (DÖRR et al. 1996).

2.3.5 Strahlentherapie in der Veterinärmedizin

Heute fordern immer mehr Besitzer eine Therapie als Alternative zur Euthanasie, wenn bei ihrem Tier eine Neoplasie diagnostiziert wird (KOHN et al. 2012, NIEMAND und SUTER 2001). Für jede Strahlenapplikation ist in der Tiermedizin eine kurze Narkose des Patienten erforderlich, um die exakte Lagerung des Tumors zu garantieren (KANDEL 2004). Deshalb weichen tiermedizinische Bestrahlungsprotokolle von den humanmedizinischen ab, da multiple Narkosen und lange Hospitalisierungszeiten für Tiere und Besitzer oft nicht zumutbar sind. Häufig wird nach einem vielfach erprobten ambulant durchführbaren Protokoll dreimal pro Woche mit Einzeldosen von je 4 Gy nach einem Montag-Mittwoch-Freitag-Schema über 3-4 Wochen, also entsprechend einem hypofraktioniertem Protokoll, behandelt (KASER-HOTZ 2012, KOHN et al. 2012). Diese Behandlung wird in der Regel von den Patienten gut toleriert und stellt deshalb eine Behandlungsoption dar, die keinen nachteiligen Einfluss auf die Lebensqualität mit sich bringt (RAMIREZ et al. 1999). Soll kurativ bestrahlt werden, wird mittlerweile aber auch bei Hund und Katze häufig eine konventionelle Radiotherapie mit 5 wöchentlichen Fraktionen angestrebt (KASER-HOTZ 2012).

Nachfolgend sollen einige repräsentative Studien zur Radiotherapie bei caninen und felines Maulhöhlentumoren beispielhaft vorgestellt werden, ohne dass Anspruch auf Vollständigkeit erhoben wird. Es ist darauf hinzuweisen, dass es sich hauptsächlich um Anwendungsberichte ohne vergleichbare Kontrollgruppen handelt, sodass das Ergebnis der Strahlentherapie nicht abschließend beurteilt werden kann.

2.3.5.1 Maulhöhlentumoren des Hundes

Zu den häufigsten Neoplasien der Maulhöhle des Hundes zählen Melanome, Plattenepithelkarzinome, Fibrosarkome und Epuliden (KESSLER 2012e). Eine Übersicht über die aktuelleren Strahlentherapie-Studien dieser Neoplasien gibt Tabelle 3.

Das maligne Melanom des Hundes ist wenig strahlensensitiv (KESSLER 2012e). Eine Bestrahlung mit Fraktionen größer als 5 Gy bis zu einer Gesamtdosis von 36 Gy kann dennoch eine effektive Alternative zur Chirurgie darstellen (BLACKWOOD und DOBSON 1996, KESSLER 2012e). Ist jedoch die Heilung des Patienten das primäre Ziel und eine Operation mit adäquatem kosmetischem Ergebnis oder zumindest eine Teilresektion möglich, sollte diese zusätzlich zur Strahlentherapie erfolgen, da die Überlebenszeit dadurch deutlich verlängert werden kann (FREEMAN et al. 2003, KING et al. 1999).

Das Resultat der Radiotherapie des oralen Plattenepithelkarzinoms des Hundes, welches im Allgemeinen gut auf eine Bestrahlung anspricht (KESSLER 2012e), ist in großem Maße von seiner Lokalisation und der histologischen Zuordnung abhängig (DORSCH 2002). Generell sind hier nicht-tonsilläre von tonsillären Plattenepithelkarzinomen zu unterscheiden. Die Studien zu den nicht-tonsillären Tumoren sind jedoch aufgrund großer Dosisvariationen und verschiedener Lokalisationen schwer zu vergleichen. LADUE-MILLER et al. (1996) beschreiben ein medianes krankheitsfreies Intervall von 365 Tagen und eine mediane Überlebenszeit von 450 Tagen nach Radiochemotherapie mit einem Protokoll mit 3-5 wöchentlichen Fraktionen zu je 3-4 Gy und einer Gesamtdosis von 48-57 Gy.

Tab. 3: Radiotherapie caniner Maulhöhlentumoren

Autoren	Fälle	Tumorart/ Lokalisation	zusätzliche Therapie	Bestrahlungs- einheit	GD Fraktionierung	Ergebnisse*
BATEMAN et al. (1994b)	18	maligne Melanome	k.A.	⁶⁰ Cobalt	24 Gy in 3 Fraktionen zu je 8 Gy an Tag 0, 7, 21	CR: 9/18 PR: 5/18 5/18 nach 9-19 Mo. noch am Leben
BLACK- WOOD und DOBSON (1996)	36	maligne Melanome	k.A.	Linearbeschleuniger oder Orthovoltröntgen- therapiegerät	36 Gy in 4 Fraktionen zu je 9 Gy an Tag 0, 7, 14, 21	Überlebenszeit: CR: 37 Wo. (5-213 Wo.) PR: 20 Wo. (10-38 Wo.)
KING et al. (1999)	69	maligne Melanome	Cisplatin (69) OP (50)	k.A.	36 Gy in 6 Fraktionen mit 1 Fraktion/Wo.	Überlebenszeit: CT+OP+RT 273 d (52-2163 d) CT+RT 140 d (46-946 d)
PROULX et al. (2003)	140	maligne Melanome	CT	⁶⁰ Cobalt	36 Gy in 4x9 Gy 30 Gy in 3x10 Gy >45 Gy in 12-19x2-4 Gy	Überlebenszeit: 7 Monate (6-9 Monate) lokale Rezidive nach 5 Mo. (4-6 Mo.)
FREEMAN et al. (2003)	39	maligne Melanome	unvollständige OP Cisplatin, Carboplatin	Megavoltröntgen- Therapiegerät	36 Gy über 6 Wo. 6 Gy 1x/Wo.	Überlebenszeit: 363 d lokale Rezidive bei 15 % nach 139 d Metastasen bei 51 % nach 311 d
THEON et al. (1997b)	105	maligne Melanome (38) PEK (39) FSA (28)	k.A.	⁶⁰ Cobalt	48 Gy in 12 Fraktionen von je 4 Gy (M-M-F)	PFS-Raten: nach 1 J.: PEK 88,9 %, FSA 76,2 %, maligne Melanome 36,4 % nach 3 J.: PEK 55 %, FSA 39,8 %, maligne Melanome 20,2 %
LADUE- MILLER et al. (1996)	14	PEK Maxilla (6) Mandibula (6) Zunge (1) Gaumen (1)	lokale HT (1) lokale HT+CT (1) syst. HT+CT (1) CT (1)	⁶⁰ Cobalt	48 oder 57 Gy mit Fraktionen zu je 3-4 Gy	Überlebenszeit: 450 d (MW 755±146 d)

Tab. 3: Fortsetzung

Autoren	Fälle	Tumorart/ Lokalisation	zusätzliche Therapie	Bestrahlungs- einheit	GD Fraktionierung	Ergebnisse*
FORREST et al. (2000)	7	FSA	unvollständige OP	k.A.	42-57 Gy in Fraktionen zu je 3-4,2 Gy	Überlebenszeit: 549 d
POIRIER et al. (2006)	31	FSA	keine	Megavoltstrahl- therapiegerät	kurativ (20): 52,5 Gy palliativ (11): 24+30 Gy, zu 3x8 Gy bzw. 5x6 Gy	Überlebenszeit: kurativ 331 d palliativ 310 d
SIMON et al. (2007)	39	FSA	OP, Doxorubicin	Orthovoltstrahl- therapiegerät	51 Gy an 17 d, Fraktionen zu je 3 Gy, 1xtägl.	Rezidive: nach 213 d (63-555 d) Metastasen: nach 276 d (8-826 d)
THEON et al. (1997a)	39	akanthomatöse Epulitiden	keine	⁶⁰ Cobalt	48 Gy in Fraktionen zu je 4 Gy (M-M-F)	PFS-Rate nach 3 J.: 80 %

CR = komplette Remission; CT = Chemotherapie; d = Tage; FSA = Fibrosarkom, GD = Gesamtdosis, HT = Hyperthermie; k.A. = aus Literaturstelle nicht ersichtlich; M-M-F = Montag-Mittwoch-Freitag; Mo. = Monat(e); MW = Mittelwert; OP = chirurgische Zytoreduktion;

PEK = Plattenepithelkarzinom; PFS = progression-free survival; PR = partielle Remission; RT = Radiotherapie; syst. = systemisch; tgl. = täglich; Wo. = Woche(n); TCD₅₀ = Bestrahlungsdosis, bei der die Wahrscheinlichkeit für eine lokale Tumorkontrolle nach einem Jahr 50 % ist

* Angabe des Medians und der Spanne

Ein ähnliches rezidivfreies Intervall beschreiben EVANS und SHOFER (1988) nach alleiniger Bestrahlung maxillärer Neoplasien, während dasjenige der Weichteil- und mandibulären Tumoren geringer ausfällt. EVANS und SHOFER (1988) zeigen außerdem einen Zusammenhang zwischen Überlebens- und Rezidivrate, Alter bei Diagnosestellung, relativem Bestrahlungsvolumen und intraoraler Lokalisation. Ursache für letztere Korrelation ist, dass rostral gelegene Umfangsvermehrungen in einem früheren Stadium diagnostiziert werden und für eine Therapie wesentlich besser erreichbar sind. Eine alleinige Radiotherapie von gingivalen Neoplasien führt im Vergleich zur Operation zu einer schlechteren Prognose, da keine Heilung erzielt werden kann, sie stellt somit nur eine Alternative im Rahmen einer palliativen Behandlung dar, wenn regionäre Metastasen existieren oder ein chirurgischer Eingriff nicht durchführbar ist (WHITE 1998).

Die Studie von MacMILLIAN et al. (1982) zeigt die Effektivität einer Strahlentherapie bei tonsillärem Plattenepithelkarzinom nach Tonsillektomie mittels 10 Fraktionen nach dem Montag-Mittwoch-Freitag-Schema bei Einbeziehung zervikaler und präskapulärer Lymphknoten in das Bestrahlungsfeld. Wird zusätzlich noch eine Chemotherapie appliziert, verbessert sich die lokale Tumorkontrollrate und die mediane Überlebenszeit des Patienten weiter signifikant, da durch die systemische Therapie auch die häufig auftretenden Metastasen erreicht werden können. Eine alleinige Radiotherapie bei tonsillärem Plattenepithelkarzinom ist somit ausschließlich als palliative Maßnahme anzusehen (BATEMAN et al. 1994a).

Schwierig ist auch die Bewertung radiotherapeutischer Erfolge bei der Behandlung oraler Fibrosarkome, da es sich hier ausschließlich um sehr kleine Patientengruppen mit großen adjuvanten Therapievariationen und sehr uneinheitlicher Lokalisation der Tumoren handelt. Nach Strahlentherapie mit 10 Fraktionen nach dem Montag-Mittwoch-Freitag-Schema und einer Gesamtdosis von 40-54,5 Gy liegt die mittlere Überlebenszeit der Hunde bei 7 Monaten, wobei 3 der 17 Patienten zusätzlich einem operativen Eingriff unterzogen wurden (THRALL 1981). Ähnliche Resultate finden auch CIEKOT et al. (1994) und McDONALD et al. (2012). Bei der retrospektiven Untersuchung von GARDNER et al. (2015) zeigt sich die Kombination aus Bestrahlung und Chirurgie mit einer medianen Überlebenszeit von 505 Tagen und einem progressionsfreiem Intervall von durchschnittlich 301 Tagen wesentlich erfolgreicher. Ein besseres Ergebnis gegenüber alleiniger Radiotherapie liefert mit einer medianen Überlebenszeit von 398 Tagen ebenso die Studie von BREWER und TURREL (1982), bei der zusätzlich eine Hyperthermie-Behandlung eingesetzt wurde. Generell zeigen orale Fibrosarkome eine deutlich schlechtere Prognose als Fibrosarkome anderer Lokalisationen. Dennoch ist die Überlebenszeit nach intensiver täglicher postoperativer Bestrahlung mit durchschnittlich 1,5 Jahren im Vergleich zu anderen oralen Neoplasien relativ lang (FORREST et al. 2000). Die Kombination von Chirurgie, Chemo- und Radiotherapie kann bisher die besten Ergebnisse erzielen (SIMON et al. 2007).

Die Therapie akanthomatöser Epulitiden mittels Bestrahlung stellt insgesamt eine sehr effektive Behandlungsmethode mit hoher Erfolgsquote dar. Eine komplette Remission kann bei 69 % der Tiere erreicht werden (THEON et al. 1997a, THRALL 1984).

2.3.5.2 Maulhöhlentumoren der Katze

Feline orale Neoplasien sind am häufigsten Plattenepithelkarzinome, Melanome, Fibrosarkome und Epuliden (KASER-HOTZ 2012, KESSLER 2012e). Eine Übersicht über die aktuelleren Strahlentherapie-Studien dieser Neoplasien gibt die Tabelle 4.

Weil Katzen eine Mandibul- oder Maxillektomie schlechter tolerieren als Hunde, muss häufiger auf alternative Therapieoptionen zurückgegriffen werden (DORSCH 2002, KESSLER 2012e). Nach einer alleinigen Chirurgie überleben Katzen mit Plattenepithelkarzinomen durchschnittlich 45 Tage (BREGAZZI et al. 2001). Ist ein operativer Eingriff möglich, stellt dieser in Kombination mit einer Radiotherapie die erfolgreichste Behandlungsstrategie mit einer medianen Überlebenszeit von 14 Monaten dar (HUTSON et al. 1992, KESSLER 2012e). Das von BREGAZZI et al. (2001) untersuchte alleinige Bestrahlungsprotokoll mit 3 Fraktionen zu je 8 Gy und einer Gesamtdosis von 24 Gy führte jedoch nicht zu einem palliativen Effekt und 85,7 % der Katzen wurden nach einer mittleren Überlebenszeit von 60-90 Tagen aufgrund fortschreitender Tumorgroße oder strahleninduzierten Nebenwirkungen euthanasiert. Auch die retrospektive Studie von McDONALD et al. (2012) ergab bei einer Therapie mit 5 täglichen Fraktionen zu je 4 Gy nur eine mediane Überlebenszeit von 3 Monaten. Die hypofraktionierte Strahlentherapie mit 14 Fraktionen von je 3,5 Gy über 7 Tage führte zu sehr variablen Überlebenszeiten. Eine Regression war bei allen Patienten bereits nach 9 Tagen sichtbar (FIDEL et al. 2011). Das erfolgreichste Protokoll bei alleiniger Bestrahlung war die Bestrahlung mit 10 täglichen Fraktionen von je 4,8 Gy. Dieses führte zu einer medianen Überlebenszeit von 174 Tagen (POIRIER et al. 2012). Bei kombinierter Radiochemotherapie ergab sich je nach Studie eine Überlebensdauer von 75-170 Tagen (BREGAZZI et al. 2001, DORSCH 2002, FIDEL et al. 2011, OGILVIE et al. 1993). Diese Kombination kann somit im Vergleich zur alleinigen Bestrahlung mit einer durchschnittlichen Überlebensdauer von 90 Tagen das Therapieergebnis verbessern (BREGAZZI et al. 2001). Wird die Strahlentherapie mit vorheriger intravenöser oder intratumoraler Gabe von Etanidazol, einem Sensitizer für hypoxische Zellen, ergänzt, kann die mediane Überlebenszeit auf 116 Tage erhöht und eine partielle Remission bei allen Patienten erreicht werden (EVANS et al. 1991). Beim zusätzlichen Einsatz einer Hyperthermie zur Radiotherapie lag die mittlere Überlebenszeit bei 75 Tagen (BREGAZZI et al. 2001). Insgesamt muss festgehalten werden, dass die Prognose für Katzen mit oralem Plattenepithelkarzinom generell schlecht ist. Haupteinflussfaktor stellt die Lokalisation dar, während Tumorstadium und -größe weniger bedeutend sind (BERTONE et al. 2003, FIDEL et al. 2011, POIRIER et al. 2012).

Die palliative hypofraktionierte Bestrahlung oraler maligner Melanome der Katze ist weniger erfolgreich als beim Hund. Obwohl die Neoplasien zunächst auf die Therapie ansprechen, mussten in der Studie von FARRELLY et al. (2004) alle untersuchten Katzen aufgrund der progressiven Tumorerkrankung nach einer medianen Überlebenszeit von 146 Tagen euthanasiert werden.

Tab. 4: Radiotherapie feliner Maulhöhlentumoren

Autoren	Fälle	Tumorart / Lokalisation	zusätzliche Therapie	Bestrahlungseinheit	GD Fraktionierung	Ergebnisse*
EVANS et al. (1991)	11	PEK lingual/sublingual (7) Wange (1) Maxilla/Mandibula (3)	Etanidazol intratumoral	Orthovoltröntgen- therapiegerät	52 Gy in 12 Fraktionen von 4,3 Gy (M-M-F)	Überlebenszeit: 116 d (19-389 d)
HUTSON et al. (1992)	7	PEK Mandibula (7)	Hemimandibul- ektomie +/- rostrale Mandibulektomie	Orthovoltröntgen- therapiegerät (5) ⁶⁰ Cobalt	45 Gy in 10 Fraktionen (D, F)	Überlebenszeit: 14 Mo. (3-36 Mo.)
OGILVIE et al. (1993)	11	PEK Zunge (4) Maxilla/Mandibula (7)	Mitoxantron (11)	k.A.	44-65 Gy in 10-15 Fraktionen über 3 Wo.	CR: 170 d (28-485 d)
POSTORINO REEVES et al. (1993)	45 (mit OP 52)	PEK Mandibula/Maxilla (28) Tonsillen (22) Gaumen (3)	RT+CT (11) RT+HT (10)	⁶⁰ Cobalt 6 MeV-Linear- beschleuniger	40-48 Gy 10-12 Gy/Wo. Fraktionen zu 4 Gy (M-M-F)	Überlebenszeit alle Katzen: 3,2 Mo. OP: 1,5 Mo. RT: 3 Mo. RT + CT: 2,5 Mo. RT + HT: 2,5 Mo.
THEON et al. (1996)	35	PEK Gingiva (19) sublingual (13) Gaumen (3)	keine	k.A.	Gruppe 1: 48 Gy, Einzelfraktionen von 4 Gy (M-M-F) Gruppe 2: 50-60 Gy, 15-18 Fraktionen zu je 3,3 Gy (tägl.)	PF > 34 %: Rezidivrisiko für Gruppe 1 2,3fach erhöht PF < 34 %: Rezidivrisiko für Gruppe 1 1,4fach erhöht
BREGAZZI et al. (2001)	7	PEK Mandibula (6) Frenulum (1)	Mitoxantron (1) Piroxicam (3)	6 MeV Linear- beschleuniger	palliativ; 24 Gy 8 Gy an Tag 0, 7 und 21	Überlebenszeit: 60 d (42-97 d)

Tab. 4: Fortsetzung

Autoren	Fälle	Tumorart / Lokalisation	zusätzliche Therapie	Bestrahlungseinheit	GD Fraktionierung	Ergebnisse*
FIDEL et al. (2007)	9	PEK Zunge (4) Tonsillen (1) Mandibula (3) Wange (1)	k.A.	6 MeV Linearbeschleuniger	49 Gy an 9 d, 14 Fraktionen zu je 3,5 Gy, 2x tägl. aller 6 h	Überlebenszeit: 86±110 d PR (6): 60±7 d CR (3): 298±187 d
FIDEL et al. (2011)	31	PEK Zunge (9) Mandibula (10) Maxilla (7) Tonsillen (4) Wange (1)	CT	6 MeV Linearbeschleuniger	49 Gy an 9 d, 14 Fraktionen zu je 3,5 Gy, 2x tägl. aller 6 h	Überlebenszeit: 163 d (53-770 d)
POIRIER et al. (2012)	21	PEK Mandibula (10) Sublingual (6) Maxilla (5)	keine	⁶⁰ Cobalt 9-16 MeV- Linearbeschleuniger	48 Gy an 10 d, 10 Fraktionen zu je 4,8 Gy, 1x tägl.	Tumorkontrolle: 45-165 d Überlebenszeit: 174 d (52-1049 d) CR: 7/21 PR: 5/21
FARRELLY et al. (2004)	5	Melanom Lippe (1) Maxilla (3) Gaumen (1)	zusätzliche RT (1), CT (2)	k.A.	24 Gy zu je 8 Gy an Tag 0, 7, 21 oder an Tag 0, 7, 13	Überlebenszeit: 146 d (66-224 d)

CR = komplette Remission; CT = Chemotherapie; d = Tage; D, F = Dienstag und Freitag; GD = Gesamtdosis; h = Stunden;

HT = lokale Hyperthermie; k.A. = aus Literaturstelle nicht ersichtlich; MeV = Megaelektronenvolt; M-M-F = Montag-Mittwoch-Freitag;

Mo. = Monat(e); MV = Megavolt; OP = chirurgische Zytoreduktion; PF = proliferative Fraktion; PR = partielle Remission; RT = Radiotherapie; tgl. = täglich; Wo. = Woche(n)

* bei Überlebenszeiten und Remission Angabe des Medians, Spanne angeben, sofern der Literaturstelle zu entnehmen

2.4 Strahlenreaktion von Normalgeweben

Die optimale Bestrahlungsdosis in der kurativen Therapie ist die Dosis, bei der eine maximale Wirkung auf den Tumor bei minimaler Schädigung des Normalgewebes erreicht werden kann (DÖRR et al. 2006, DÖRR 2006b, KASER-HOTZ 2012). Strahleninduzierte Normalgewebsreaktionen treten im Gegensatz zu Komplikationen systemischer Therapieoptionen von Tumoren primär nur im exponierten Gewebe auf (DÖRR et al. 2006, DÖRR 2006a).

Die Latenzzeit ist definiert als Zeit zwischen dem Beginn einer Strahlentherapie und der ersten Diagnose eines klinischen Endpunktes (DÖRR 2006b, HERRMANN et al. 2006, KASER-HOTZ 2012). Frühe Reaktionen manifestieren sich bereits während oder innerhalb von 90 Tagen nach Beginn der Radiotherapie, typischerweise in Geweben mit hohen Proliferationsraten. Dagegen können Spätfolgen erst Monate bis viele Jahre nach der Behandlung in allen Geweben auftreten. Grundsätzlich sind die pathogenetischen Abläufe beider Typen von Nebenwirkungen mit Ausnahme sogenannter konsekutiver Strahlenfolgen (siehe 2.4.3.) unabhängig voneinander (DÖRR et al. 2006, DÖRR 2006b, 2009, 2015, DÖRR und TROTT 2000).

2.4.1 Frühe Strahlenreaktionen

Typischerweise treten diese Reaktionen in sogenannten Umsatzgeweben auf, bei denen eine dauerhafte Zellneubildung deren permanenten physiologischen Zellverlust ausgleicht. Dazu zählen z.B. die Epidermis, Epithelien der Schleimhäute oder das Knochenmark (DÖRR 2009, 2010, 2015, HERRMANN et al. 2006, KASER-HOTZ 2012, STEWART und DÖRR 2009). Umsatzgewebe sind gekennzeichnet durch eine hierarchische Organisation ihrer Proliferation (DÖRR 2009, 2015, HERRMANN et al. 2006). Aus einer Stammzelle, die unbegrenzt teilungsfähig ist, entsteht im Rahmen einer asymmetrischen Teilung je eine Stammzelle und eine Transitzelle. Letztere ist noch begrenzt teilungsfähig, entwickelt sich aber durch terminale Differenzierung in eine reife, postmitotische Funktionszelle (DÖRR 2006b, 2009, HERRMANN et al. 2006, STEWART und DÖRR 2009). Die Umsatz- oder Turnoverzeit eines Gewebes ist definiert als der Zeitraum, in dem alle zu einem bestimmten Zeitpunkt vorhandenen Zellen einmal ersetzt werden (DÖRR 2010, HERRMANN et al. 2006).

Früh reagierende Gewebe zeigen nach Strahlenexposition eine Reduktion der Zellproduktion aufgrund der Sterilisation von Stammzellen, während Differenzierungsvorgänge und physiologischer Zellverlust unabhängig von der Bestrahlung über weite Dosisbereiche fortbestehen (DÖRR et al. 2006, DÖRR 2006b, 2009, 2010, 2015, HERRMANN et al. 2006). Die Anzahl der Stammzellen und deren intrinsische zellspezifische Strahlenempfindlichkeit definiert die Strahlentoleranz des entsprechenden Gewebes (DÖRR 2006b, 2009, STEWART und DÖRR 2009).

Ein klinischer Effekt stellt sich aufgrund der Unterschreitung eines gewissen Schwellenwertes der Zellzahl (Hypoplasie) ein (DÖRR 2006b, 2009, 2010, KASER-HOTZ 2012). Die Latenzzeit

bis zum Auftreten eines klinischen Endpunktes ist nicht dosisabhängig, sondern wird bedingt durch die gewebsspezifische Umsatzzeit (DÖRR et al. 2009, DÖRR 2009, 2010, 2015, HERRMANN et al. 2006). Wie lange die Gewebsreaktion anhält und wie schwer diese ausfällt, ist dagegen abhängig von der verabreichten Dosis, da diese das Ausmaß der Zellabtötung bestimmt (HERRMANN et al. 2006).

Die Häufigkeit eines bestimmten Schweregrades einer Frühreaktion folgt in Abhängigkeit von der applizierten Gesamtdosis einer sigmoiden Dosis-Wirkungs-Beziehung. Als ED50 ist dabei die Dosis definiert, bei der bei 50 % der Tiere ein bestimmter Effekt zu erwarten ist. Frühreaktionen sind in der Regel reversibel (DÖRR 2009, 2010, HERRMANN et al. 2006, KASER-HOTZ 2012). Bei Verlängerung der Gesamtbehandlungsdauer wird deren Häufigkeit und ihr Schweregrad reduziert (DÖRR 2015, HERRMANN et al. 2006). Eine zusätzliche Chemotherapie kann die Latenzzeit verkürzen, da auch postmitotische Zellen abgetötet werden können (DE CASTRO und GUINDALINI 2010, DÖRR 2006a, DÖRR et al. 2009).

Generell können frühe Nebenwirkungen durch Bestrahlungsplanung, begleitende Maßnahmen und die Vermeidung zusätzlicher Noxen bzw. Traumata oder Infektionen reduziert werden (siehe Kap. 2.6.4) (DE CASTRO und GUINDALINI 2010, DÖRR 2005). Dies ist insbesondere deshalb von Bedeutung, weil die Ausprägung von Frühreaktionen das Auftreten konsekutiver Späteffekte beeinflusst (DÖRR 2006b, 2009, 2015) und frühe Reaktionen in der Veterinärmedizin bei nahezu allen Patienten auftreten (DORSCH 2002, KASER-HOTZ 2012).

2.4.2 Späte Strahleneffekte

Die Pathogenese später Strahlenfolgen ist komplex. Im Organparenchym selbst erfolgt die Abtötung der organspezifischen Zellen (DÖRR 2009, 2010, 2015, STEWART und DÖRR 2009). Eine Schlüsselrolle spielt die Reaktion des Gefäßsystems. Dazu zählt die Verminderung der Kapillardichte als Folge der Endothelzellschädigung, welche in einer Atrophie der versorgten Parenchymbereiche resultiert (DÖRR 2005, DÖRR et al. 2006, DÖRR 2006b, 2009, 2010, 2015, HERRMANN et al. 2006, STEWART und DÖRR 2009). Ein weiterer Strahleneffekt am Gefäßsystem sind Teleangiektasien, die zu Blutungen führen können, und Sklerosen der Arteriolen (DÖRR 2005, 2006b, 2009, 2010, DÖRR et al. 2006). Im Bindegewebe führt die Bestrahlung zu einer beschleunigten Differenzierung der Fibroblasten zu Fibrozyten mit einem Anstieg der Kollagensynthese und in der Folge zu einer produktiven Fibrose (DÖRR 2005, 2006b, 2009, 2010, DÖRR et al. 2006, HERRMANN et al. 2006, STEWART und DÖRR 2009). Späte Nebenwirkungen verlaufen häufig progredient und sind in der Regel irreversibel (DÖRR et al. 2006, DÖRR 2006a, 2006b, 2009, 2010, HERRMANN et al. 2006).

Die Fraktionsdosis ist entscheidend für die Strahlenempfindlichkeit chronisch reagierender Gewebe (DÖRR 2006b, 2015, HERRMANN et al. 2006). Dagegen beeinflusst die Gesamtdosis die Progressionsrate und Latenzzeit später Strahleneffekte (DÖRR 2005, 2006a, 2006b, 2009, 2010, 2015, DÖRR et al. 2006, HERRMANN et al. 2006).

2.4.3 Konsekutive Späteffekte

Die Pathogenese konsekutiver Späteffekte beruht auf der Beeinträchtigung der Barriere- und Schutzfunktion früh reagierender Gewebe gegenüber mechanischen oder chemischen Einflüssen (DÖRR 2005, 2009, 2015, DÖRR et al. 2006, HERRMANN et al. 2006). Somit treten sie bei Organen mit einem Oberflächenepithel auf, wie z.B. Darm, Mundhöhle, Haut, Harnblase und Lunge (DÖRR et al. 2006, DÖRR 2009, HERRMANN et al. 2006). Morphologisch ist eine Unterscheidung zwischen „echten“ chronischen Nebenwirkungen und konsekutiven Spätreaktionen nicht möglich (DÖRR und TROTT 2000).

Konsekutive Späteffekte folgen den radiobiologischen Prinzipien früher Reaktionen und können durch die Minimierung von Früheffekten reduziert werden (DÖRR et al. 2006, DÖRR 2009, 2015, HERRMANN et al. 2006).

2.5 Nebenwirkungen bei Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich

Die bedeutendste frühe Strahlenreaktion bei Radiotherapie im Kopf-Hals-Bereich ist die Mucositis enoralis, welche aufgrund des Schwerpunktes dieser Arbeit in Kapitel 2.6. gesondert behandelt wird. Zu den akuten Nebenwirkungen bei Bestrahlung von Kopf-Hals-Tumoren zählen außerdem Dysphagie, Dysgeusie, Dysphonie, Dermatitis, milde subkutane Ödeme, lokaler Haarverlust, Keratokonjunktivitis, Otitis und der Untergang seröser Zellen der Speicheldrüsen, welcher den initialen Schritt für die chronische Xerostomie darstellt (BATTH et al. 2013, BHANDARE et al. 2010, DE CASTRO und GUINDALINI 2010, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, DÖRR 2009, IRUNE et al. 2014, KASER-HOTZ 2012, MANIKANTAN et al. 2009, NUND et al. 2014, RUO und ALLIS 2006, XU et al. 2008).

Späte Strahleneffekte im Kopf-Hals-Bereich sind Radioxerostomie, die infizierte Osteoradionekrose (IORN), Trismus, Strahlenkaries, Haut- und Weichteilnekrosen, Alopezie und Visusverlust infolge einer Strahlenkatarakt (AINSBURY et al. 2009, BONNER et al. 2006, DEASY et al. 2010, DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, JOHNSON et al. 2014, KASER-HOTZ 2012, PAULI et al. 2013, PAULI et al. 2014a, POIRIER et al. 2012).

Neben den lokalen Effekten können systemische Nebenwirkungen wie Gewichtsverlust, reduziertes Allgemeinbefinden, Übelkeit und Erbrechen, Müdigkeit, Erschöpfung, verminderte Konzentrations- und Leistungsfähigkeit nach einer Radiotherapie auftreten (BONNER et al. 2006, DÖRR 2005).

2.5.1 Dysphagie

Schluckstörungen können sowohl Symptom durch den Tumorbefall als auch eine Nebenwirkung der Therapie sein. Die Dysphagie kann nach einer Bestrahlung aufgrund neuromuskulärer und sensorischer Schädigungen im Bereich des Larynx auftreten und steht meist im Zusammenhang mit einer Mukositis und/oder Xerostomie (MANIKANTAN et al. 2009, NUND et al. 2014). Durchschnittliche Gesamtdosen von 50-60 Gy auf den Larynx führen bei ca. 50 % der Patienten zu Schluckstörungen (RANCATI et al. 2010). Aufgrund der Dysphagie

besteht das Risiko einer Aspirationspneumonie und die Lebensqualität des Patienten ist erheblich beeinträchtigt (MANIKANTAN et al. 2009, NUND et al. 2014, RANCATI et al. 2010).

2.5.2 Dysgeusie

Veränderung oder der Verlust der Geschmacksempfindung entstehen aufgrund der direkten Strahlenwirkung auf die Geschmackspapillen oder indirekt als Folge einer Xerostomie (Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, DÖRR 2009). Die Dysgeusie erreicht ihr Maximum meist in der 3.-4. Woche nach Beginn der Radiotherapie (IRUNE et al. 2014, RUO und ALLIS 2006). Ihre Schwellendosis liegt bei 20-30 Gy (DÖRR et al. 2008, DÖRR 2009, IRUNE et al. 2014). Insbesondere die Geschmacksempfindungen „bitter“ und „salzig“ sind beeinträchtigt (BAHARVAND et al. 2013, DÖRR et al. 2008). Die veränderte Wahrnehmung kann zu einem Wechsel bei der Verwendung von Nahrungszusätzen und Gewürzen führen, mit der Gefahr einer zusätzlichen Schleimhautschädigung (DÖRR et al. 2008). Häufig klingt die Dysgeusie innerhalb eines Jahres nach Therapieende wieder vollständig ab, jedoch berichten ca. 1/3 der Patienten noch bis zu 2 Jahre nach Ende der Radiotherapie von Geschmacksveränderungen (Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, DÖRR et al. 2008, DÖRR 2009, IRUNE et al. 2014, RUO und ALLIS 2006). Die Dysgeusie beeinträchtigt, aufgrund des reduzierten Appetits, erheblich die Lebensqualität des Patienten und führt häufig zu einer Gewichtsreduktion (BAHARVAND et al. 2013, McLAUGHLIN 2013, RUO und ALLIS 2006). Eine kausale Therapie ist bisher nicht möglich (DÖRR et al. 2008).

2.5.3 Dysphonie

Stimmveränderungen stellen eine häufige Nebenwirkung nach Radiotherapie von Kopf-Hals-Tumoren dar. Selbst ein Jahr nach Therapieende zeigen 25 % der Patienten noch eine milde Dysphonie, sofern die Stimmlippen in das Bestrahlungsvolumen einbezogen werden müssen (DI NICOLA et al. 2010). Da eine starke Abhängigkeit von der applizierten Dosis auf den Larynx besteht, sollte die Gesamtdosis hier 50 Gy nicht überschreiten (SANGUINETI et al. 2014).

2.5.4 Radioxerostomie

Eine Radioxerostomie, d.h. Mundtrockenheit, manifestiert sich meist schon innerhalb der ersten Therapiewochen in Form einer Abnahme der Speichelmenge und Zunahme der Viskosität (DE CASTRO und GUINDALINI 2010, Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, DÖRR 2009). Diese für den Patienten sehr unangenehme Symptomatik ist bei Gesamtdosen über 60 Gy irreversibel (DÖRR 2009). Sie resultiert aus einer Degeneration der Drüsenzellen sowie einer interstitiellen Fibrose in den Parotiden, submandibulären, sublingualen und akzessorischen Speicheldrüsen (DE CASTRO und GUINDALINI 2010, Deutsche Krebshilfe e.V. 2009). Initial führt die Bestrahlung zu einer Schädigung seröser Zellen, sodass der Speichel zunächst eine zähflüssige Konsistenz annimmt, bevor nach höheren Dosen zusätzlich eine Atrophie muzinöser Anteile erfolgt (DÖRR und RIESENBECK 2000). Da der Speichel neben der Unterstützung der Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme, Sprech-, Kau- und Schluckfunktion auch einen antikariösen und antiinflammatorischen Effekt hat, ist das Risiko für sekundäre

Infektionen und die Entstehung von Zahnkaries bei Xerostomie deutlich erhöht (DE CASTRO und GUINDALINI 2010, HERRMANN et al. 2006). Für einen Großteil der Patienten hat die Mundtrockenheit einen erheblichen negativen Einfluss auf die Lebensqualität und kann aufgrund mangelnder Nahrungsaufnahme zum Gewichtsverlust führen (DE CASTRO und GUINDALINI 2010, DÖRR 2009).

Eine kausale Therapie ist bislang nicht möglich. Zu den symptomatischen Therapieoptionen gehören Speichelersatzmittel und Speicheldrüsenstimulanzien, Nahrungsaufnahme mit viel Flüssigkeit, die Stimulation des Speichelflusses mittels zuckerfreier Bonbons oder die Anwendung laktoperoxidasehaltiger Zahncremes und Mundspülungen (DE CASTRO und GUINDALINI 2010, Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, DÖRR et al. 2008, DÖRR und RIESENBECK 2000). Die wichtigste Prophylaxe besteht in der Reduktion des Speicheldrüsengewebes im Hochdosisvolumen (DE CASTRO und GUINDALINI 2010, DEASY et al. 2010, HERRMANN et al. 2006, MÜNTER et al. 2007).

2.5.5 Infizierte Osteoradionekrose (IORN)

Die infizierte Osteoradionekrose der Mandibula ist die schwerwiegendste lokale Folge der Bestrahlung von Kopf-Hals-Tumoren. In Abhängigkeit vom Bestrahlungsprotokoll erkranken mit einer medianen Latenzzeit von 8 Monaten bis zu 25 % der Patienten (DÖRR et al. 2008, NIEWALD et al. 2014, TSAI et al. 2013). Die IORN geht einher mit starken Schmerzen (DÖRR et al. 2008) und ist die Folge von Störungen des Knochenstoffwechsels und radiogener Gefäßveränderungen (HERRMANN et al. 2006). Röntgenologisch ist der Nachweis veränderter Knochenstrukturen mit Verdichtungs- und Destruktionszonen möglich. Oft lassen sich auch Sequestrierungen oder Fisteln, die in die Schleimhaut oder Haut münden, finden (DÖRR et al. 2008).

Bereits nach einer Zahnextraktion, einer einfachen Wunde oder durch Prothesendruckstellen können progrediente therapieresistente Osteolysen entstehen. Deshalb sollten alle nötigen Zahnbehandlungen bereits im Vorfeld der Strahlentherapie durchgeführt werden. Bei zahnärztlichen Maßnahmen nach Radiotherapie sind besondere Kautelen, wie z.B. eine extensive Infektionsprophylaxe, einzuhalten (DÖRR et al. 2008, NIEWALD et al. 2013, NIEWALD et al. 2014). Zu den Prophylaxe- bzw. Therapieansätzen zählen die sorgfältige Wundtoilette und -spülung, Antibiose und ggf. auch eine hyperbare Sauerstofftherapie. Bei nahezu der Hälfte der Patienten ist eine chirurgische Resektion mit Sequestrotomie, marginaler oder segmentaler Mandibulektomie notwendig (DÖRR et al. 2008). Eine Reduktion der Gesamtdosis unter 50 Gy im Bereich der Mandibula verringert das Risiko, an einer Osteonekrose zu erkranken, signifikant (TSAI et al. 2013).

2.5.6 Trismus

Eine häufige Komplikation der Radiotherapie im Kopf-Hals-Bereich ist die Behinderung der Mundöffnung. Diese tritt bei ca. 1/3 der Patienten auf (PAULI et al. 2013). Die Hauptursache des Trismus nach Bestrahlung stellt die strahleninduzierte Fibrose der Kiefermuskulatur dar

(PAULI et al. 2014a, SATHEESHKUMAR und MOHAN 2013). Die daraus resultierende Einschränkung der Nahrungsaufnahme und des Sprechens reduziert die Lebensqualität des Patienten erheblich (DÖRR et al. 2008, JOHNSON et al. 2014, PAULI et al. 2014a). Bereits während der Behandlung können regelmäßige Mundöffnungsübungen eine sinnvolle prophylaktische Maßnahme darstellen (DÖRR et al. 2008, GRÖTZ et al. 2003). Im Anschluss an die Radiotherapie gilt die mehrmals tägliche Dehnung der Kiefermuskulatur über mindestens 4 Wochen als häufigster und erfolgreichster Therapieansatz (PAULI et al. 2014b, PAULI et al. 2014a).

2.5.7 Strahlenkaries

Strahlenkaries kann durch die direkte Schädigung der Zahnhartsubstanz und/oder infolge einer Xerostomie-induzierten Schmelzdemineralisierung bereits nach einer Bestrahlung mit 15-20 Gy entstehen und zum Zahnverlust führen (DÖRR 2005, DÖRR et al. 2008, DÖRR 2009). Mögliche prophylaktische Maßnahmen sind die Extraktion vorgeschädigter Zähne, eine gründliche Sanierung verbleibender Zähne vor Beginn der Strahlentherapie, eine regelmäßige und gründliche Reinigung und die tägliche Fluoridierung der Zähne während und auch langfristig nach der Therapie (DÖRR 2005, DÖRR et al. 2008).

2.6 Radiogene Mucositis enoralis

2.6.1 Klinische Bedeutung

Die Mucositis enoralis ist die bedeutendste und meist dosislimitierende frühe Nebenwirkung einer Radiotherapie von ausgedehnten Kopf-Hals-Tumoren (BESE et al. 2007, BONOMI und BATT 2015, DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2009, DÖRR 2009, HAAGEN et al. 2009, KEEFE et al. 2007, MALLICK et al. 2016). Nahezu alle Patienten entwickeln bei einer Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich einen gewissen Grad der Mukositis (DÖRR 2009, ELTING et al. 2007, ELTING et al. 2008, FIDEL et al. 2007, KEEFE et al. 2007, MURPHY 2007).

In einigen Fällen kann eine Unterbrechung der Behandlung notwendig werden, um eine Heilung der Schleimhaut zu ermöglichen (BONOMI und BATT 2015, DÖRR et al. 2009, MALLICK et al. 2016, RUSSO et al. 2008). Je länger die Therapiepause ist, umso geringer ist jedoch auch die Heilungschance der Krebserkrankung (BONOMI und BATT 2015, DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, DÖRR 2009, ELTING et al. 2008, EPSTEIN und KLASSER 2006, MALLICK et al. 2016). Bereits eine Therapieunterbrechung von einer Woche bei fraktionierter Bestrahlung ist assoziiert mit einer Reduktion der Tumorkontrollrate von durchschnittlich 12-14 % (BESE et al. 2007).

Bei den meisten Patienten mit Mucositis enoralis ist aufgrund von Schmerzen, Schluck- und Sprechstörungen sowie sekundären Infektionen die Lebensqualität erheblich beeinträchtigt (BONOMI und BATT 2015, DÖRR et al. 2009, DÖRR 2009, ELTING et al. 2007, ELTING et al. 2008, EPSTEIN und KLASSER 2006, MALLICK et al. 2016). Im weiteren Krankheitsverlauf können Gewichtsreduktion und Dehydratation auftreten, die gegebenenfalls eine künstliche

Ernährung notwendig machen (ELTING et al. 2007, RUSSO et al. 2008). In Abhängigkeit von Dauer und Schweregrad der radiogenen Mukositis steigt zudem das Risiko für späte Nebenwirkungen, wie z.B. chronische Schleimhautatrophie, chronische Ulzera oder Osteoradionekrose (DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, DÖRR 2009). Durch die erhöhte Hospitalisierungsrate, den Einsatz von Schmerzmitteln und/oder die Notwendigkeit einer speziellen Ernährung entstehen durch die Mucositis enoralis in Abhängigkeit vom Schweregrad signifikante zusätzliche Kosten (DÖRR et al. 2009, DÖRR 2009, EPSTEIN und KLASSER 2006, KEEFE et al. 2007, MURPHY 2007). In den USA verursacht ein Patient mit einer ulzerativen Mukositis in Abhängigkeit vom Schweregrad Mehrkosten von 1700-6000 \$ (ELTING et al. 2007). Für Deutschland muss eine vergleichbare Größenordnung angenommen werden.

2.6.2 Zeitlicher Verlauf und Pathogenese

Die Strahlenreaktion der Mukosa ist ein komplexer biologischer Prozess, welcher aus mehreren Komponenten besteht: Gefäßreaktion, Epithelreaktion, eventuell Sekundärinfektionen (Soor, Sepsis) und Heilungsphase (DÖRR 2006b, 2009, DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2009, LOGAN et al. 2007b, SCARDINA et al. 2010, SONIS 2007).

Unter konventionell fraktionierter Bestrahlung treten in der 2.-3. Bestrahlungswoche Erytheme, Ödeme und fokale Schleimhauterosionen auf, die von einer Pseudomembran aus Zellresten und Fibrin bedeckt werden (DÖRR 2005, 2009, DÖRR et al. 2005a, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009). Aus der fokalen Form entwickelt sich im weiteren Verlauf ab der 3.-4. Therapiewoche eine konfluente ulzerative Mukositis. Die Latenzzeit für die konfluente ulzerative Mukositis liegt bei durchschnittlich 9 Tagen nach dem Erreichen einer Schwellendosis von 20 Gy (DÖRR et al. 2000, Van der SCHUEREN et al. 1990). Die Heilung benötigt üblicherweise mehrere Wochen nach Ende der Strahlentherapie.

Die bedeutendste klinische Phase der strahleninduzierten Mucositis enoralis stellt die Epithelreaktion dar. Die Pathogenese der Epithelreaktion entspricht derjenigen einer typischen Frühreaktion in Umsatzgeweben (siehe 2.4.1). Aufgrund der strahlenbedingt beeinträchtigten Proliferation in der Germinativschicht kommt es zur Hypoplasie bis hin zur kompletten Zelldepletion (Ulzeration) (DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, LOGAN et al. 2007b, SCARDINA et al. 2010).

2.6.3 Klassifizierungssysteme

Für die Klassifikation des Schweregrades einer radiogenen Mucositis enoralis existieren verschiedene international anerkannte Systeme. Die Einteilung erfolgt üblicherweise in 6 Grade: Grad 0 (keine Symptome) bis Grad 5 (Tod des Patienten infolge der Nebenwirkung) (DÖRR et al. 2008, DÖRR 2009, WHO 1979, KARSTENS et al. 2010, NCI 2006, RTOG 2015). Die Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) und die European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) entwickelten die Einteilung für Früh- und Spätreaktionen einer Radiotherapie (DÖRR 2009, RTOG 2015). Ihre Einteilung wird routinemäßig in der Onkologie eingesetzt (DÖRR und RIESENBECK 2000).

Das Klassifikationssystem der Common Toxicity/Terminology Criteria (for Adverse Events) (CTC(AE)) des National Cancer Institute der USA (NCI 2006) wurde erstmalig 1988 publiziert und diente ursprünglich, ebenso wie das 1979 von der WHO (World Health Organisation) veröffentlichte System, der Dokumentation früher Nebenwirkungen einer Chemotherapie. Inzwischen wurden die Systeme aber so modifiziert, dass die Komplikationen aller onkologischer Einzeltherapien sowie multimodaler Therapiekonzepte erfasst werden können (WHO 1979, KARSTENS et al. 2010, NCI 2006). Die CTC-Klassifikation wird von der Deutschen Krebsgesellschaft und der Arbeitsgemeinschaft Deutscher Tumorzentren für kontrollierte multizentrische Studien in der Onkologie empfohlen (SEEGENSCHMIEDT und ZIMMERMANN 2000). Hier wird die Mucositis enoralis analog zu den strahleninduzierten Veränderungen des gesamten Gastrointestinaltraktes beurteilt (DÖRR und RIESENBECK 2000).

In Tabelle 5 sind die Systematiken nach EORTC/RTOG, CTC und WHO zusammengefasst.

Tab. 5: Einteilung der Mukositisgrade nach RTOG/EORTC, CTC und WHO (WHO 1979, NCI 2006, RTOG 2015, SEEGENSCHMIEDT und ZIMMERMANN 2000)

	Grad					
	0	1	2	3	4	5
RTOG/ EORTC	keine Veränderung	mildes Erythem, geringe Schmerzen, keine Analgetika nötig	fleckförmige, mäßig schmerzende Mucositis, Analgetika erforderlich	konfluente Mucositis, starke Schmerzen, Narkotika erforderlich	Blutungen, Ulzeration, Nekrosen, ggf. parenterale Ernährung nötig	Tod des Pati- enten durch die Neben- wirkung
CTC		Entzündung, Erythem, schmerzlose Erosion	stellenweise Erosionen/ Pseudo- membran, moderate Schmerzen, feste Nahrung möglich	konfluente Ulzeration, starke Schmerzen, Bedarf flüssiger Kost und Analgetika	Nekrosen, Spontan- blutungen, orale Nahrungsauf- nahme nicht möglich, lebensbe- drohlich	
WHO		Entzündung, Rötung	Erythem, Ulzeration, feste Nahrung möglich	Ulzeration, nur flüssige Nahrungsauf- nahme möglich	orale Ernährung nicht möglich	

RTOG/EORTC = Radiation Therapy Oncology Group/European Organisation for Research and Treatment of Cancer; CTC = Common Toxicity/Terminology Criteria; WHO = World Health Organisation

Das 1995 veröffentlichte LENT-SOMA-System dient der Einteilung und Spezifikation von Späteffekten (LENT = late effect in normal tissues) der onkologischen Therapie. Die Nebenwirkungen werden mit Hilfe von 4 Kategorien (SOMA) erfasst: S = subjektive (patientenbezogene) Kriterien, O = objektive (untersucherbezogene) Kriterien, M = Management (notwendige Therapiemaßnahmen), A = Analytik (weitergehende Analyse- bzw. Diagnoseverfahren). Wiederum werden die Symptome in 6 Schweregrade (0 = keine Symptome, 5 = tödlicher Ausgang) eingeteilt. Aufgrund der Detailgenauigkeit ist die Klassifikation vor allem für klinischen Studien geeignet (DÖRR 2009, SEEGENSCHMIEDT et al. 2000, SEEGENSCHMIEDT und ZIMMERMANN 2000). Neben diesen Klassifikationssystemen wurde spezifisch für die Mundschleimhaut der Oral Mucositis Assessment Scale (OMAS) entwickelt. Das System eignet sich aber nicht für die Erfassung von Nebenwirkungen der Strahlentherapie, da verschiedene vorab festgelegte Lokalisationen in der Mundhöhle beurteilt werden, unabhängig davon, ob sie bestrahlt wurden oder nicht (DÖRR 2009).

2.6.4 Prophylaxe und Therapie

Die Vielzahl der Behandlungsansätze zeigt, dass bisher keine spezifische Strategie Einzug in die klinische Routine gefunden hat (BONOMI und BATT 2015, MALLICK et al. 2016, VIET et al. 2014). Leitlinien der Fachgesellschaften (Deutsche Gesellschaft für Radioonkologie e.V. (DEGRO) 2006a, 2006b, GRÖTZ 2003) sowie umfassende Übersichtsarbeiten (BONOMI und BATT 2015, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, EPSTEIN und KLASSER 2006, KEEFE et al. 2007, MALLICK et al. 2016) dienen als Orientierung.

Es finden im Wesentlichen allgemein prophylaktische und symptomatische Maßnahmen Anwendung. Diese sollen hier kurz umrissen werden.

2.6.4.1 Allgemeine Maßnahmen

Zu den allgemeinen prophylaktischen Maßnahmen zählt eine detaillierte Therapieplanung (BESE et al. 2007, DÖRR et al. 2009). Eine konformale Strahlentherapie ermöglicht die Reduktion von Nebenwirkungen durch Reduktion des bestrahlten Normalgewebsvolumens (ARGIRIS et al. 2008, DÖRR et al. 2008).

Zahnprothesen sollten während der Strahlentherapie und bis zu 6 Monate nach Therapieende nicht getragen werden, um Druckstellen an der Mukosa zu vermeiden (DÖRR et al. 2009, GRÖTZ et al. 2003). Da Implantate mit Metall-Legierungen (Brücken, Kronen, metallische Füllungen) bei einer Bestrahlung zu einer lokalen Dosiserhöhung aufgrund entstehender Streustrahlung führen, werden zur Bestrahlung Abstandsschienen/Schleimhautretraktoren aus Kunststoff mit 2-3 mm Dicke eingesetzt (DÖRR 2005, DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, GRÖTZ et al. 2003).

Alkohol- und Nikotinkonsum sollten möglichst unterbleiben, auch wenn der negative Einfluss durch intensive Mundpflegemaßnahmen unterdrückt werden kann (Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, DÖRR 2009, EPSTEIN und KLASSER 2006, KARSTENS et al. 2010).

Die Ernährung von Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren spielt eine wichtige Rolle in der Prophylaxe der Mucositis enoralis. Scharfkantige, stark gewürzte, säurehaltige, sehr kalte oder heiße Speisen und Getränke sollten gemieden werden (Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, DÖRR 2009, EPSTEIN und KLASSER 2006, KARSTENS et al. 2010). Es muss auf eine ausreichende Nahrungszufuhr geachtet werden, um einen Gewichtsverlust des Patienten zu vermeiden (DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2009). Gegebenenfalls ist die Ernährung über eine nasogastrale Sonde oder ein perkutanes endoskopisches Gastrostoma indiziert, in Ausnahmefällen auch parenteral (DE CASTRO und GUINDALINI 2010, DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008).

2.6.4.2 Betreuung des Patienten

Von entscheidender Bedeutung ist die persönliche Betreuung des Patienten während und im Anschluss an die Behandlung. So kann der Einsatz von Schmerzmitteln signifikant gesenkt werden (DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2009).

2.6.4.3 Mundhygiene

Während und im Anschluss an die Bestrahlung werden bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren eine professionelle Mundpflege sowie regelmäßige Mundspülungen dringend empfohlen (BESE et al. 2007, BONOMI und BATT 2015, DE CASTRO und GUINDALINI 2010, DÖRR 2005, DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, EPSTEIN und KLASSER 2006, KARSTENS et al. 2010, KEEFE et al. 2007). Dabei steht die regelmäßige (4-6 mal täglich, mindestens nach jeder Nahrungsaufnahme) und intensive Reinigung der Mundhöhle im Vordergrund. Dem Inhalt der Spüllösungen (klares Wasser, Salbeisud, Kamillesud, Dexpanthenol u.v.m.) kommt nur eine untergeordnete Bedeutung zu (DÖRR et al. 2005b, DÖRR 2005, DÖRR et al. 2005a, DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, KARSTENS et al. 2010).

2.6.4.4 Antiinflammatorische und analgetische Therapie

Lokal oder systemisch wirkende Schmerzmittel müssen bei der radiogenen Mucositis enoralis entsprechend den allgemeinen Grundsätzen zum Einsatz kommen (BONOMI und BATT 2015, DÖRR 2005, DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, EPSTEIN und KLASSER 2006, KASER-HOTZ 2012, LALLA et al. 2006). Nichtsteroidale Analgetika (NSAID) werden ebenfalls bei Patienten mit Mucositis enoralis eingesetzt (EPSTEIN und KLASSER 2006, LALLA et al. 2006). Benzydamin ist außerdem analgetisch und antiseptisch wirksam, weist jedoch einen unangenehmen Geschmack auf, welcher die Compliance der Patienten beeinträchtigt (DÖRR et al. 2007, SONIS 2004).

2.6.4.5 Antimikrobielle Therapie

Der Verlust der Schutz- und Barrierefunktion der Schleimhaut bei einer Mucositis enoralis führt häufig zu Infektionen mit opportunistischen Keimen, wie z.B. *Candida albicans* oder gramnegativen Bakterien, die bis hin zur Sepsis führen können (DÖRR et al. 2008, DÖRR et

al. 2009). Dennoch sollten antimikrobiell wirksame Medikamente nur bei vorliegender Indikation und möglichst nach Antibiogramm eingesetzt werden (DÖRR 2005, DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, KASER-HOTZ 2012).

Bei einer Infektion mit *Candida albicans* (Soorstomatitis), die durch weiße Beläge und Borken auf der Schleimhaut zu erkennen ist, kommen Amphotericin B, Fluconazol oder Nystatin zum Einsatz (DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, GRÖTZ et al. 2003, KARSTENS et al. 2010). Gramnegative Bakterien werden meist mit Polymyxin B und Tobramycin therapiert (DÖRR 1997a, VERDI 1993), während eine Herpesvirusinfektion üblicherweise lokal mit virostativen Salben behandelt wird (KARSTENS et al. 2010). Gegebenenfalls sind systemische Therapiestrategien nötig.

2.6.4.6 Kryotherapie

Ein weiterer prophylaktischer Ansatz bei der Mucositis enoralis besteht in der lokalen Kälteapplikation (Kryotherapie) jeweils kurz vor der Bestrahlung. Die dadurch hervorgerufene lokale Vasokonstriktion führt zu einer Hypoxie der Schleimhaut mit daraus resultierender Verminderung der Strahlenempfindlichkeit. Zudem wirkt die Kälteapplikation schmerzstillend (DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, HERRMANN et al. 2006). Die Kryotherapie erfolgt über die Gabe von Eistabletten aus Wasser, Kamille- oder Salbeisud, die nicht scharfkantig und nicht zu kalt sein dürfen (Dörr et al. 2007, Dörr et al. 2008, Dörr et al. 2009). Es ist jedoch unbedingt darauf zu achten, dass die Kälte den Tumor nicht erreicht (DÖRR et al. 2009).

2.6.4.7 Proliferationsstimulation

Ein weiterer Ansatz zur Reduktion der Mucositis enoralis liegt in der Stimulation der epithelialen Proliferation, um die Effektivität der Regenerationsprozesse und somit die Strahlentoleranz des Gewebes zu erhöhen (biologische Konditionierung) (DÖRR et al. 1995, DÖRR 1997a, 2003a, DÖRR und KUMMERMEHR 1992, DÖRR und WEBER-FRISCH 1995). Dies kann durch eine sanfte Abtragung der obersten Epithelschichten, beispielsweise mittels einer lokalen Laserbehandlung oder einer lokalen Applikation von adstringierenden Substanzen, realisiert werden, sodass der physiologische Proliferationsreiz gesteigert wird. Eine Ablation mittels Laserbehandlung ist jedoch technisch sehr aufwendig (BENSADOUN und NAIR 2012, CAUWELS und MARTENS 2011, GENOT und KLASTERSKY 2005, LINO et al. 2011, WAGNER et al. 2013).

Als Adstringenz kommt z.B. eine 0,5-20 %ige Silbernitratlösung zum Einsatz (DÖRR 1997a, DÖRR et al. 1997, DÖRR et al. 2006, DÖRR et al. 2007). Sowohl in der humanen Mukosa als auch im Tierversuch konnte damit nach fraktionierter, hingegen nicht nach Einzeitbestrahlung, eine Steigerung der Strahlentoleranz nachgewiesen werden. In der Humanmedizin muss dabei die Fraktionierung akzeleriert durchgeführt werden (DÖRR et al. 1995, DÖRR 1997a, DÖRR et al. 1997, DÖRR et al. 2006, DÖRR und KUMMERMEHR 1992, MACIEJEWSKI et al. 1991).

2.6.4.8 Reduktion freier Sauerstoffradikale

Da freie Sauerstoffradikale eine initiale Rolle in der Entstehung von Strahlenreaktionen spielen, besteht eine weitere prophylaktische Option im Einsatz von Antioxidantien oder intrazellulär detoxifizierenden Substanzen wie Amifostin, Vitamin E, Selen oder Superoxiddismutase (DÖRR et al. 2007, HERRMANN et al. 2006, SONIS 2004).

Für Amifostin kann wegen einer möglichen Tumorstärke, widersprüchlicher Studienergebnisse und starker Nebenwirkungen (Übelkeit, Erbrechen, schwere Hypotension, Krämpfe, Bewusstseinsstrübung) derzeit keine Empfehlung für den klinischen Einsatz gegeben werden (BUENTZEL et al. 2006, DÖRR et al. 2007, FLEISCHER und DÖRR 2006, GU et al. 2014, LI et al. 2014, NICOLATOU-GALITIS et al. 2013, SASSE et al. 2006, STOKMAN et al. 2006).

2.6.4.9 Biologisch basierte Therapieansätze

Zu weiteren biologisch begründeten Ansätzen in der Prävention und Therapie der radiogenen Mucositis enoralis zählen der Einsatz von Wachstumsfaktoren und Zytokinen. Dazu existierte eine Vielzahl präklinischer Untersuchungen, auf die hier nicht eingegangen werden soll (ALVAREZ et al. 2003, BERTAZZA und MOCELLIN 2008, GULSHAN et al. 2008, HEHLGANS und PFEFFER 2005, SCHMIDT 2009, SONIS 2004).

In klinischen Studien wurde im Wesentlichen der Keratinozyten-Wachstumsfaktor (KGF, Palifermin) und Granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) (BRIZEL et al. 2001, DÖRR 2003b, FINCH und RUBIN 2006, HOFFMAN et al. 2014, LE et al. 2011, LUCHESE et al. 2015, MASUCCI et al. 2005, McALEESE et al. 2006, NASILOWSKA-ADAMSKA et al. 2007, RYU et al. 2007, SPIELBERGER et al. 2004) getestet.

Es steht die rekombinante humane Form von KGF (rHuKGF, Palifermin) zur Verfügung. KGF wurde erstmals 1989 beschrieben. Er führt u.a. zur Steigerung der epithelialen Proliferation, Modulation von Migrations- und Differenzierungsvorgängen und Stimulation von DNA-Reparaturprozessen (DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, FINCH und RUBIN 2006). Zudem wirkt er antiinflammatorisch (BLIJLEVENS und SONIS 2007). Tierexperimentelle Studien und in vitro- Versuche konnten für KGF bisher keinen protektiven Effekt auf Tumorzellen nachweisen (DÖRR 2003b, FINCH und RUBIN 2006).

HENKE et al. (2011) fanden im Rahmen einer randomisierten, placebo-kontrollierten Phase II-Studie eine signifikante Verringerung der Inzidenz, Dauer und Schwere der Mucositis bei Patienten, die primär mit fraktionierter Bestrahlung und Chemotherapie (Cisplatin) behandelt wurden. Die Latenzzeit vom Beginn der Strahlentherapie bis zum Eintreten der Reaktionen verlängerte sich von 32 auf 45 Tage.

LE et al. (2011) belegten in ihrer klinischen Studie mit konventionell fraktionierter Bestrahlung und anschließender Radiochemotherapie gleichfalls eine Reduktion der Inzidenz (um 12 %) und Dauer der Mucositis enoralis sowie eine Verlängerung der Latenzzeit im Versuchsgruppe mit zusätzlichem Einsatz von KGF.

Bei Leukämiepatienten, die zur Konditionierung für eine autologe Stammzell- bzw. Vorläuferzelltransplantation vorab mit Ganzkörperbestrahlung und Hochdosis-Chemotherapie

behandelt wurden, konnte in einer randomisierten Placebo-kontrollierten Phase I-Studie nach Einsatz von KGF eine Reduktion des Schweregrades und der Dauer der Mukositis Grad 2-4 festgestellt werden (DURRANT et al. 1999). Ähnliche Ergebnisse erzielten die Untersuchungen von LUCCHESI et al. (2015) an Patienten mit lymphatischer Leukämie. Ebenso belegten SPIELBERGER et al. (2004) in einer doppelblinden Phase III-Studie an Patienten mit hämatologisch-onkologischen Erkrankungen eine Reduktion der Mukositisgrade 3 und 4 (WHO) und eine Verkürzung der Mukosisdauer unter KGF-Behandlung. NASIŁOWSKA-ADAMSKA et al. (2007) wiesen bei Patienten mit hämatologischen Tumoren eine reduzierte Inzidenz und Dauer der oralen Mukositis nach. Weiterhin belegten sie, dass in der Kontrollgruppe mit Verabreichung von KGF signifikant weniger Patienten Analgetika und eine parenterale Ernährung benötigten.

In allen klinischen Studien wird die Verabreichung von Palifermin von den Patienten gut vertragen. Bei den Nebenwirkungen handelt es sich meist um einen gering- bis mittelgradigen, temporären Hautausschlag und eine übermäßige Speichelproduktion während der ersten drei Behandlungstage (BRIZEL et al. 2001). Des Weiteren wird bei allen Patienten ein vorübergehender asymptomatischer Anstieg der Serumlipase und -amylase nach dreimaliger Injektion beobachtet (DÖRR 2003b, FINCH und RUBIN 2006, SPIELBERGER et al. 2004). In randomisierten klinischen Studien zur Effektivität von GM-CSF bei kurativer Bestrahlung von Kopf-Hals-Tumoren konnte keine Verbesserung der Lebensqualität für den Patienten festgestellt werden (HOFFMAN et al. 2014, RYU et al. 2007). Weiterhin konnte kein positiver Effekt auf die Schwere und den Verlauf der Mucositis enoralis belegt werden. McALEESE et al. (2006) und MASUCCI et al. (2005) hingegen fanden in ihren Studien eine signifikante Reduktion des Schweregrades der Schleimhautreaktion unter Behandlung mit GM-CSF bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren.

2.7 Einflussfaktoren der Strahlenempfindlichkeit

Die Strahlenempfindlichkeit von Neoplasien und Normalgeweben wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst, die als die „4 R“ beschrieben werden. Dies sind **Recovery** (Erholung), **Repopulierung**, **Redistribution** und **Reoxygenierung** (DÖRR 2010, HERRMANN et al. 2006, WITHERS 1970, 1975). Um die grundsätzliche Strahlenempfindlichkeit unterschiedlicher Gewebearten zu berücksichtigen, wurde die intrinsische Radiosensitivität als fünftes „R“ hinzugefügt (DÖRR 2010, HERRMANN et al. 2006, STEEL et al. 1989).

2.7.1 Intrinsische Strahlenempfindlichkeit

Als intrinsische Strahlenempfindlichkeit wird die genetisch determinierte Empfindlichkeit von Zellen bzw. Geweben gegenüber Bestrahlung definiert (HERRMANN et al. 2006, KASER-HOTZ 2012). Die Strahlenempfindlichkeit eines Gewebes wird bestimmt durch die Anzahl und Strahlenempfindlichkeit der Gewebstammzellen (Stammzellkonzept) (DÖRR 2009, HERRMANN et al. 2006, KASER-HOTZ 2012, STEWART und DÖRR 2009).

2.7.2 Recovery (Erholung)

Erholungsvorgänge bezeichnen die Fähigkeit von Zellen und Geweben, während einer fraktionierten Bestrahlung einen Teil der applizierten Dosis zu kompensieren (DÖRR 2010). Die sogenannte „Schulterkurve“ (Abb. 1) stellt halblogarithmisch das Überleben klonogener Zellen nach einmaliger Bestrahlung in Abhängigkeit von der applizierten Gesamtdosis dar. Sie kann mittels des Linear-Quadratischen (LQ-) Modells beschrieben werden, entsprechend der Gleichung $E = n(\alpha + \beta d^2)$ (E = biologischer Effekt; n = Anzahl der Fraktionen; d = Dosis je Fraktion) (BENTZEN et al. 2012, DÖRR 2010, HERRMANN et al. 2006, MIYAKAWA et al. 2014, STEWART und DÖRR 2009). Die Konstanten α und β sind zellspezifisch. Als repräsentativ zur Beschreibung der Strahlenempfindlichkeit von murinen Keratinozyten können Werte von $\alpha = 0,2 \text{ Gy}^{-1}$ und $\beta = 0,02 \text{ Gy}^{-2}$ angenommen werden. Somit ergeben sich durchschnittliche Überlebensraten bei 2 Gy bzw. 3 Gy von 62 % bzw. 46 % (DÖRR 1997a). Die zum Erreichen eines bestimmten Effekts notwendige Gesamtdosis (z.B. ED50) erhöht sich durch den Fraktionierungseffekt. Für gewebliche Strahlenreaktionen entspricht dies einer Verschiebung der Dosis-Effekt-Kurven zu höheren Gesamtdosen. Das Ausmaß dieser Verschiebung ist dabei abhängig von Strahlenart, Dosis pro Fraktion, Zeitintervall zwischen den Fraktionen und vom betrachteten Effekt (HERRMANN et al. 2006). Spät reagierende Gewebe zeigen eine größere Erholungskapazität als früh reagierende Gewebe und Tumoren (DÖRR 2010). Für die orale Mukositis der Maus gilt ein α/β -Wert von 11,6 Gy, der vergleichbar mit dem der humanen Mundschleimhaut ist. Der Fraktionierungseffekt ist somit gering, aber dennoch signifikant nachweisbar (HERRMANN et al. 2006). Erholungsprozesse folgen einer exponentiellen Kinetik, die durch eine Halbwertszeit (HWZ) beschrieben werden kann. Die HWZ der Erholung subletaler Schäden in der Mäusezunge liegt bei durchschnittlich 46 Minuten (DÖRR et al. 1993). Bei der klinischen Radiotherapie sollte das Intervall zwischen den Fraktionen nicht weniger als 6 Stunden betragen (HERRMANN et al. 2006).

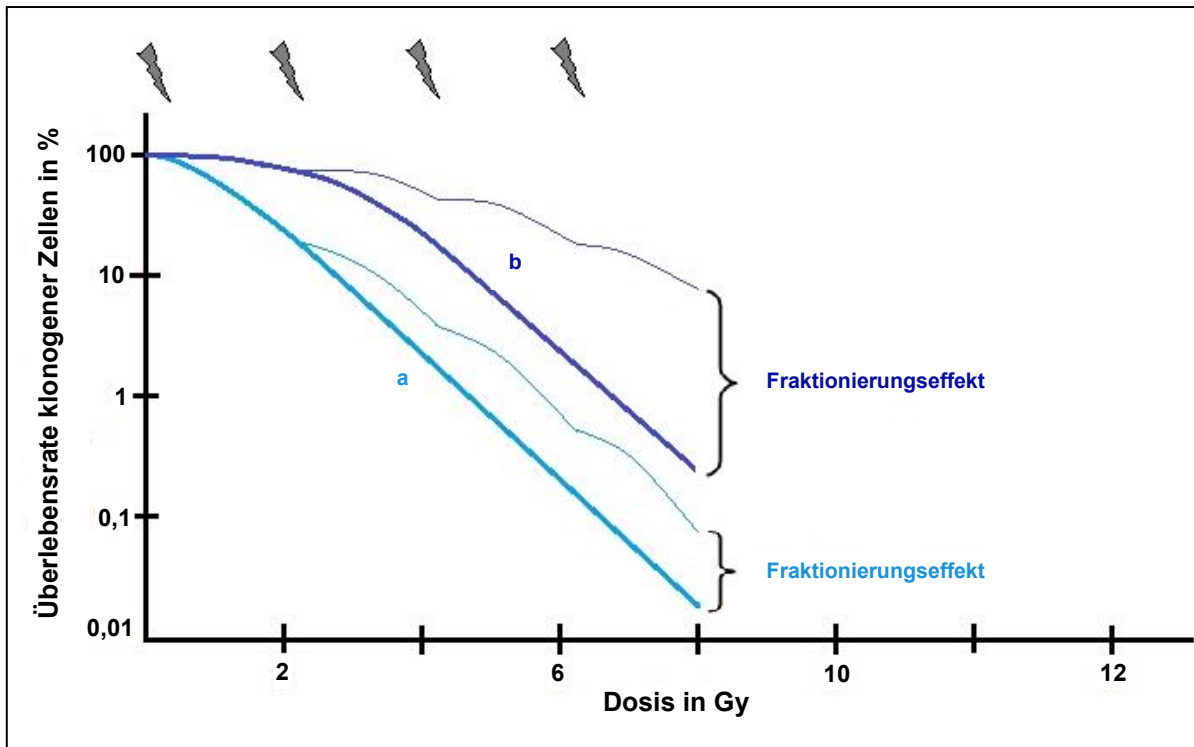


Abb. 1: Zellüberlebenskurven nach Einzeit- und fraktionierter Bestrahlung nach HERRMANN et al. (2006)

Die Abbildung stellt halblogarithmisch das Zellüberleben nach einmaliger bzw. fraktionierter Bestrahlung in Abhängigkeit von der Gesamtdosis dar (a = hoher α/β -Wert, geringer Fraktionierungseffekt; b = geringer α/β -Wert, hoher Fraktionierungseffekt)

2.7.3 Repopulierung

Als Repopulierung wird die regenerative Antwort von Umsatzgeweben und Tumoren während einer fraktionierten Bestrahlung und in Therapiepausen bezeichnet (HERRMANN et al. 2006, KARSTENS et al. 2010, KASER-HOTZ 2012, STEWART und DÖRR 2009). Zu den grundlegenden Mechanismen der Repopulierung in Normalgeweben zählen der Asymmetrieverlust und die Akzeleration der Stammzellteilungen sowie das Auftreten abortiver Teilungen (DÖRR 2003a, DÖRR und HERRMANN 2003).

Repopulierungsmechanismen setzen erst nach einer zeitlichen Verzögerung ein, die abhängig von der Umsatzzeit des betreffenden Gewebes und der Dosisintensität des Bestrahlungsprotokolls ist (DÖRR 2003a, DÖRR und HERRMANN 2003). Die Verzögerung in der oralen Mukosa der Maus von weniger als einer Woche (DÖRR et al. 2000) entspricht den Werten der humanen Mundschleimhaut (DÖRR et al. 2002). Nach dieser Zeitspanne kommt es zu einer Kompensation des Zellverlustes einerseits und zu einer dosisabhängigen Zunahme der Strahlentoleranz des Gewebes andererseits (DÖRR et al. 2002). Vergleichbare Prozesse in einigen Tumorentitäten (v.a. Plattenepithelkarzinom) haben zur Folge, dass jede Verlängerung der Gesamtbehandlungszeit zu einer verminderten Tumorkontrollrate führt (DÖRR et al. 2009, HERRMANN et al. 2006). Essentielle Voraussetzung zum Ausgleich eines Stammzellverlustes ist die Generierung von zwei (statt üblicherweise einer) Stammzellen pro Stammzellteilung. Dieses Teilungsmuster wird als symmetrisch bezeichnet, im Gegensatz zu den physiolo-

gischen, asymmetrischen Teilungen (DÖRR 2009, STEWART und DÖRR 2009). Die Regulation erfolgt innerhalb des Stammzellkompartiments in Folge der strahlenbedingten Abnahme der Stammzellzahl (DÖRR 2009). Zu den Mechanismen der Repopulierung gehört daneben die Beschleunigung (Akzelerierung) der Stammzellteilungen im Vergleich zum unbestrahlten Gewebe. Sie wird vermutlich über die Abnahme der Gesamtzellzahl des Gewebes reguliert (DÖRR 2003a, 2009, DÖRR und HERRMANN 2003). Abortive Teilungen stellen die residuelle proliferative Aktivität sterilisierter Zellen, welche ihren Stammzellcharakter bereits verloren haben, dar. Anschließend durchlaufen die dadurch gebildeten Zellen die terminale Differenzierung und migrieren in die funktionelle Schicht (DÖRR und HERRMANN 2003). Durch diese abortiven Teilungen ist die Latenzzeit bis zum Einsetzen eines klinischen Effekts länger als die Umsatzzeit des Gewebes. Sie spielen eine entscheidende Rolle bei der Erhaltung der Barrierefunktion des Epithels (DÖRR 2009).

2.7.4 Redistribution

Die Radiosensitivität von Zellen ist abhängig von der Phase des Zellzyklus, in der sie sich zum Zeitpunkt der Bestrahlung befinden. Nach einer Bestrahlung sterben insbesondere die Zellen in den empfindlichen G2- und Mitose-Phasen ab (DORSCH 2002). Die überlebenden Zellen bilden einen sogenannten G2-Block aus, was eine partielle Synchronisation zur Folge hat (HERRMANN et al. 2006). Unter Redistribution wird die anschließende Neuverteilung der überlebenden Zellen in Folge von Unterschieden in den Zellzykluszeiten auf alle Phasen des Zellzyklus verstanden (KARSTENS et al. 2010, KASER-HOTZ 2012). Die Bedeutung dieser Zellzykluseffekte für die Strahlenreaktion von Geweben ist unklar, eine besondere Relevanz ist jedoch auszuschließen (DÖRR et al. 1994b).

2.7.5 Reoxygenierung

Ein weiterer Faktor, der die Strahlenempfindlichkeit von Zellen und Geweben beeinflusst, ist die zelluläre Sauerstoffkonzentration. Hypoxische Zellen sind bis zu dreimal weniger radiosensitiv als gut mit Sauerstoff versorgte (euoxische) Zellen. Eine Strahlenexposition sterilisiert deshalb bevorzugt euoxische Zellen, wodurch der relative Anteil hypoxischer Zellen nach einer Bestrahlung ansteigt (DÖRR 2010, HERRMANN et al. 2006, KARSTENS et al. 2010, KASER-HOTZ 2012). Während einer Radiotherapie nimmt der Anteil euoxischer Zellen in den Tumoren wieder zu. Diesen Vorgang bezeichnet man als Reoxygenierung (HERRMANN et al. 2006). Zugrundeliegende Mechanismen sind die Verlängerung der Diffusionsstrecke des Sauerstoffs in Folge der Reduktion des Tumolvolumens und damit der Abnahme sauerstoffverbrauchender Zellen und die Öffnung temporärer Gefäßverschlüsse (HERRMANN et al. 2006, KASER-HOTZ 2012). Dieses Phänomen betrifft nur Tumoren, bei denen in vielen Fällen eine variable Fraktion hypoxischer Zellen vorliegt. In Normalgeweben findet sich dagegen keine oder nur eine geringe, konstante Anzahl hypoxischer Zellen (DÖRR 2010). Für die Strahlenreaktion von Normalgeweben haben Reoxygenierungsprozesse deshalb keine Bedeutung.

2.7.6 Volumeneffekt

Der Volumeneffekt besagt, dass die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von klinischen Symptomen abhängig von der Größe des bestrahlten Anteils eines Organs ist (DÖRR 2010, HERRMANN et al. 2006). WITHERS et al. (1988a) setzen die Strahlenreaktion in Bezug zur strukturellen Organisation des jeweiligen Organs. Die sogenannten „funktionellen Untereinheiten“ (FSU) eines Organs können entweder parallel oder in Serie geschaltet sein. Bei paralleler Organisation (z.B. Lunge, Niere, Leber) ist das Risiko der Entwicklung radiogener Nebenwirkungen abhängig von der Verteilung der Gesamtdosis innerhalb des Organs. Ein klinischer Effekt wird nur beobachtet, wenn eine ausreichend große Anzahl an FSU sterilisiert wird und folglich die Organfunktion nicht mehr aufrechterhalten werden kann. In Organen mit serieller Organisation der funktionellen Untereinheiten (z.B. Rückenmark, Ösophagus, Gastrointestinaltrakt) kann im Gegensatz dazu bereits die Ausschaltung einer einzelnen funktionellen Untereinheit in einem relevanten Strahlenschaden im nachgeschalteten Organanteil resultieren. Die Dosisverteilung innerhalb des Organs erscheint dabei weniger relevant, das Risiko für Nebenwirkungen ist bevorzugt abhängig von einzelnen Dosispitzen (DÖRR 2006b, HERRMANN et al. 2006, WITHERS et al. 1988b).

Für Volumeneffekte in der oralen Mukosa besteht einerseits ein Zusammenhang zwischen der Größe der exponierten Fläche, andererseits auch ein Zusammenhang zwischen der Lokalisation des Bestrahlungsfeldes und den klinischen Konsequenzen der Mukositis. Zum Beispiel führt ein Ausschluss der Lippen aus dem Hochdosisvolumen zur signifikanten Verminderung der Auswirkung der lokalen Nebenwirkungen (DÖRR 2009).

2.8 Aufbau und Organisation der Mundschleimhaut

2.8.1 Allgemeine Anatomie der Mundhöhle

Die Mundhöhle (Cavum oris) wird durch die Zahnbögen des Ober- und Unterkiefers in den Mundhöhlenvorhof (Vestibulum oris) und die eigentliche Mundhöhle (Cavum oris proprium) geteilt. Begrenzt wird die Mundhöhle durch die Lippen (Labiae), die Backen (Buccae), den harten Gaumen (Palatum durum) und den Mundhöhlenboden. Nach kaudal besteht eine offene Verbindung zur Rachenhöhle. Das Cavum oris wird durch ein mehrschichtiges Plattenepithel ausgekleidet, welches der Lamina propria, einer Schicht aus relativ straffem Bindegewebe, aufliegt. Die Zunge (Lingua) füllt als hauptsächlich muskulöse Platte die Mundhöhle (SALOMON 2008).

2.8.2 Anatomie der Mäusezunge

Die Zunge (Lingua) kann in den Zungenkörper (Corpus linguae), die Zungenspitze (Apex linguae) und die Zungenwurzel bzw. den Zungengrund (Radix linguae) gegliedert werden. Durch eine Furche (Sulcus medianus linguae) wird sie median geteilt. Als Musculus lingualis proprius werden die Binnenmuskeln bzw. intrinsischen Muskeln der Zunge zusammengefasst, welche sich gegenseitig durchkreuzen und mit Fettgewebe durchzogen sind. Zur Insertion der Zunge am Mundhöhlenboden dient das Zungenbändchen (Frenulum linguae). Der Zungenrücken (Dorsum linguae) besitzt eine Vielzahl von Geschmacks- und mechanisch wirksamen Papillen (Papillae linguales). Die kegel-, faden- oder pilzförmigen Papillen (Papillae filiformes/fungiformes) dienen der Mechano- und Thermorezeption und verleihen dem Zungenrücken einen samtartigen Charakter. Zur Geschmacksempfindung dienen die Papillae vallatae und Papillae foliatae, welche sich im Bereich des Zungengrundes auch an den Seitenrändern befinden (SALOMON 2008).

Im Rahmen dieser Arbeit wird das papillenfrie Epithel der Zungenunterseite der Maus untersucht. Im Weiteren wird dies deshalb näher charakterisiert.

2.8.3 Histologischer Aufbau und proliferative Organisation der Schleimhaut der murinen Zungenunterseite

Die Schleimhaut der Zungenunterseite der Maus wird von einem mehrschichtigen, verhornenden Plattenepithel bedeckt und besitzt weder Geschmacks- noch mechanische Papillen (DÖRR 1997a). Sie wird von der Submukosa, welche der quergestreiften Zungenmuskulatur aufliegt, durch die Basalmembran abgegrenzt (DÖRR 1997a). Das Epithel der murinen Zungenunterseite wird in die Germinativschicht, die funktionelle Schicht und die Keratinschicht eingeteilt. Sein histologischer Aufbau ist in Abbildung 2 dargestellt.

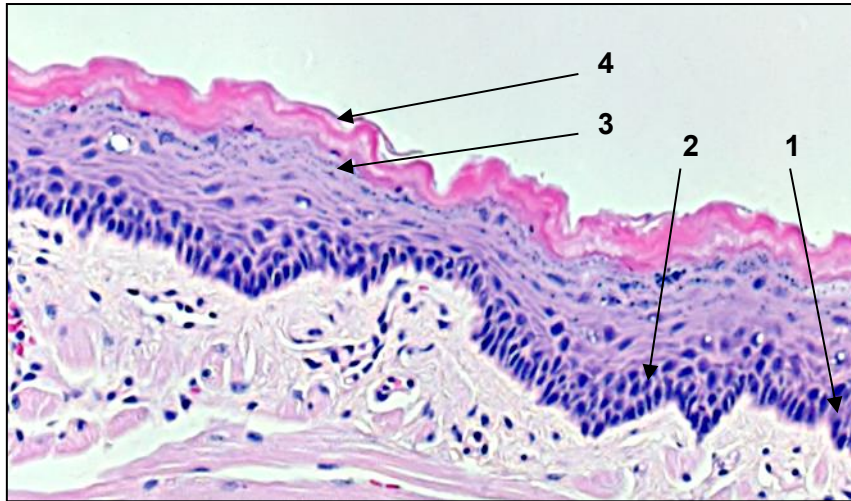


Abb. 2: Histologischer Aufbau der Zungenunterseite der Maus (Hämatoxylin-Eosin-Färbung)-
Quelle und © Haase

Die Abbildung zeigt die vier Schichten des mehrschichtigen verhornenden Plattenepithels:
1: Stratum basale, 2: Stratum spinosum, 3: Stratum granulosum, 4: Stratum corneum

Die Zungenunterseite der Maus gehört zu den sogenannten Umsatzgeweben, mit permanenter Zellneubildung zum Ausgleich des kontinuierlichen Zellverlustes an der Oberfläche (HERRMANN et al. 2006). Als Umsatzzeit wird der Zeitraum definiert, in dem alle Zellen einmal ersetzt werden (DÖRR 2006b, HERRMANN et al. 2006). Im Zungenepithel der Maus beträgt sie ca. 5 Tage (DÖRR 1997a).

Die Germinativschicht umfasst alle proliferierenden Zellen, d.h. das Stratum basale (Basalzellschicht) und die tiefen Anteile des Stratum spinosum (Stachelzellschicht). Im Stratum basale, welches der Basalmembran aufliegt, befinden sich basophile, iso- bis hochprismatische, polygonale Zellen, die durch zahlreiche Zytoplasmaausläufer miteinander in Verbindung stehen. Die Stachelzellschicht enthält hauptsächlich isoprismatische, polygonale, zur Oberfläche hin flacher werdende Zellen, welche im Rahmen der histologischen Präparation schrumpfen und dabei durch ihre Vielzahl an Interzellularbrücken (Desmosomen) ihr stacheliges Aussehen erhalten (LIEBICH 2010).

Die Germinativschicht bildet die Grundlage der Zellneubildung und ermöglicht nach einem zytotoxischen Insult eine vollständige Rekonstituierung des Gewebes. Die in ihr enthaltenen Stammzellen bestimmen durch ihre Anzahl und ihre intrinsische Strahlenempfindlichkeit die Gesamtempfindlichkeit des Gewebes, entsprechend dem Stammzellkonzept der Strahlenempfindlichkeit (DÖRR 2006b, 2009, 2010, 2015, KASER-HOTZ 2012, STEWART und DÖRR 2009).

In der funktionellen Schicht befinden sich postmitotische Zellen des oberen Stratum spinosum, sowie des Stratum granulosum (Körnerschicht), welche hier ihre terminale Differenzierung durchlaufen und zur Epitheloberfläche migrieren (HERRMANN et al. 2006). Stratum basale, Stratum spinosum und Stratum granulosum werden auch unter dem Begriff Stratum profundum zusammengefasst (LIEBICH 2010).

Die Keratinschicht (Stratum corneum) ist die kernlose, oberflächliche Epithelschicht. Sie enthält mehrere Lagen an Keratin, welches aus Keratohyalin und Tonofilamentbündeln besteht

und wird auch als Stratum superficiale bezeichnet (LIEBICH 2010). Die Dicke der gesamten murinen Schleimhaut einschließlich des Stratum superficiale beträgt ca. 100 µm (Stamm C3H/Neu) (DÖRR 1997a).

2.8.4 Besonderheiten der humanen Mundschleimhaut

Die Mundschleimhaut des Menschen trägt, ebenso wie die der Maus, ein mehrschichtiges Plattenepithel, welches an mechanisch stark beanspruchten Bereichen der Mundhöhle, wie dem harten Gaumen, ein Stratum corneum ausbildet (DÖRR 1997a). Die Umsatzzeit der humanen oralen Mukosa beträgt 5-7 Tage, dies entspricht somit in etwa der Umsatzzeit des Zungenunterseitenepithels der Maus (DÖRR et al. 2002). Ebenso sind morphologische Veränderungen und Latenzzeiten klinischer Effekte nach Radiotherapie vergleichbar (Van der SCHUEREN et al. 1990).

2.9 Tiermodelle zur Untersuchung der radiogenen oralen Mucositis

Zur Untersuchung der radiogenen enoralen Mukositis wurden verschiedene Tiermodelle etabliert. Die ersten Versuche zur Strahlenreaktion von Plattenepithelien fanden an der Haut von Mäusen, Ratten und Schweinen statt. Jedoch ließen sich die Ergebnisse aufgrund der Unterschiede in Anatomie, Physiologie und Proliferationsverhalten der Haut nur eingeschränkt auf die Mundschleimhaut übertragen. Die Bedeutung der frühen Strahlenreaktion der Mundschleimhaut konnte erstmalig 1962 in Bestrahlungsversuchen an Mäusen nachgewiesen werden. Durch die Kopfbestrahlung und der daraus resultierenden Veränderungen der Mundschleimhaut wurde die Futteraufnahme so stark beeinträchtigt, dass die Mäuse stark an Gewicht verloren. Als Endpunkt wurde der Tod der Tiere analysiert (GOEPP und FITCH 1962). Heute dient die orale Schleimhaut verschiedener Labornager als Tiermodell zur Untersuchung der strahleninduzierten Mukositis.

2.9.1 Schleimhaut der Hamster-Backentasche

Die Etablierung der Backentasche des Hamsters als Modell der Mucositis enoralis erfolgte im Rahmen von Versuchen zu chemotherapie-assoziierten Nebenwirkungen (SONIS et al. 1990). Jedoch wurden nur wenige Untersuchungen zur Mukositis an der Hamster-Backentasche mit Bestrahlung durchgeführt (FENG et al. 2008, GULSHAN et al. 2008, WATANABE et al. 2014). Vorteil dieses Modells ist die Größe des zur Verfügung stehenden Schleimhautbereiches. Um eine klinische Mukositis nach Strahlenexposition auszulösen, ist jedoch eine zusätzliche mechanische Irritation der Schleimhaut notwendig, welche schwer zu standardisieren ist (SONIS et al. 1990). Weiterhin wird infolge einer reduzierten Futteraufnahme eine deutliche Gewichtsabnahme der Tiere nach Bestrahlung beobachtet (ALVAREZ et al. 2003, GULSHAN et al. 2008). Eine Interaktion zwischen Gewichtsreduktion und Manifestation der oralen Mukositis ist nicht auszuschließen.

2.9.2 Zungenschleimhaut der Ratte

DÖRR (1987) beschrieb erstmals als Tiermodell für strahlenbiologische Untersuchungen die Zungenschleimhaut der Ratte. Bei Bestrahlung der gesamten Zungenunterseite zeigten die Versuchstiere eine verminderte Futteraufnahme und folglich einen Gewichtsverlust von bis zu 30 % (DÖRR 1987). Ähnliche Ergebnisse erzielten die Versuche von CHANG et al. (2014), LEE et al. (2007) und SHIN et al. (2013) an Ratten unter lokaler Einzeitbestrahlung mit 20, 25 bzw. 30 Gy zur Untersuchung des Effektes von Epicatechin (Extrakt des grünen Tee), EGF bzw. koreanischem roten Ginseng.

Durch die Bestrahlung eines kleineren Bestrahlungsfeldes (REZVANI und ROSS 2004) und einem fraktionierten bzw. hyperfraktionierten Bestrahlungprotokoll (CASSATT et al. 2005) kann der Tierverlust in Folge des massiven Gewichtsverlustes vermieden werden.

2.9.3 Schleimhaut der Mäuselippe

PARKINS et al. (1983) etablierte das Modell der Mäuselippe zur Untersuchung der radiogenen Mucositis enoralis. Jedoch zeigten die Tiere durch die Strahleneffekte an der gesamten Schnauze ebenfalls eine reduzierte Futteraufnahme mit daraus resultierendem Gewichtsverlust, der in vielen Fällen eine Euthanasie erzwang (ANG et al. 1985, XU et al. 1984).

2.9.4 Zungenschleimhaut der Maus

Das Modell der Mäusezunge zur Untersuchung der strahleninduzierten Mucositis enoralis wurde erstmals von MOSES und KUMMERMEHR (1986) vorgestellt. Auch hier führte die Bestrahlung der gesamten Zunge zu deutlichen Gewichtsverlusten. DÖRR (1987) modifizierte deshalb dieses Modell. Die fraktionierte Bestrahlung wurde als Schnauzenbestrahlung appliziert, jedoch nur bis zu einem subklinischen Effektniveau. So konnte der Gewichtsverlust vermieden werden. Ein klinischer Effekt wurde anschließend durch eine Aufsättigungsbestrahlung in nur einem kleinen Areal auf der Zungenunterseite ausgelöst. Diese Bestrahlung wurde gut und ohne Gewichtsverlust toleriert (DÖRR und KUMMERMEHR 1991). Weiterhin konnte bei der perkutanen Schnauzenbestrahlung auf eine Anästhesie der Mäuse verzichtet werden. Als klinischer Endpunkt der Untersuchungen an der Zungenschleimhaut der Maus diente die Ulzeration des Epithels im Testfeld (DÖRR und KUMMERMEHR 1990, 1991).

Die Unterseite der Mäusezunge trägt ein Epithel, welches in Aufbau, Proliferationsverhalten, zellkinetischen Parametern und in den morphologischen Veränderungen nach Strahlenexposition vergleichbar zu dem des Menschen ist. Sie ist somit gut für strahlenbiologische Untersuchungen zur Mucositis enoralis geeignet (DÖRR et al. 1994a, DÖRR et al. 1994b, DÖRR und KUMMERMEHR 1990, 1991, DÖRR und OBEYESEKERE 2001, Van der SCHUEREN et al. 1990). Dieses Modell wurde in den letzten Jahrzehnten in einer Vielzahl strahlenbiologischer Untersuchungen eingesetzt und fand auch für die vorliegenden Untersuchungen Anwendung.

2.10 C-Jun

In der vorliegenden Arbeit wurde die Expression von c-Jun in der Mundschleimhaut untersucht. C-Jun ist eine Komponente des aus mehreren Untereinheiten bestehenden, dimerischen Transkriptionsfaktors Activator Protein-1 (AP-1). AP-1 beinhaltet Mitglieder mehrerer Protein-Subfamilien, welche entweder Tissue Plasminogen Activator- (TPA-) oder Cyclisches Adenosinmonophosphat- (cAMP-) Antwort-Elemente erkennen (MAO et al. 2008). Die Regulation der AP-1-Aktivität erfolgt über Dimerisation, Transkription, post-translationale Modifikation und Interaktion mit anderen Proteinen (BRIATA et al. 1993, MAO et al. 2008).

C-Jun wird sowohl im Zellkern als auch im Zytoplasma exprimiert (BRIATA et al. 1993). Wachstumsfaktoren, Zytokine, bakterielle und virale Infekte sowie ionisierende Strahlung können über eine Phosphorylierung durch JNK (c-Jun N-terminale Kinase) zu einer Aktivierung führen (MAO et al. 2008, MATHAS 2002). Desweiteren wird c-Jun durch sein Produkt Jun/AP-1 positiv autoreguliert und kann u.a. durch andere Mitglieder der Jun-Familie inhibiert werden (MAO et al. 2008, MATHAS 2002).

C-Jun fördert die Proliferation und Differenzierung von Fibroblasten, kontrolliert den Zelltod in einer Vielzahl verschiedener Gewebe, besitzt einen mitogenen Effekt auf Keratinozyten und ist an der mesenchymal-epithelialen Interaktion sowie der Wundheilung beteiligt (LIN und DIBLING 2002, MAO et al. 2008, MATHAS 2002, MEHIC et al. 2005, NEUB et al. 2007, UEHARA et al. 2005).

2.11 Nuclear Factor kappa B

Der Nuclear Factor kappa B (NF- κ B) wurde ebenfalls in der vorliegenden Arbeit untersucht. Es handelt sich dabei um einen Transkriptionsfaktor (EGAN et al. 2004). NF- κ B besteht aus jeweils 1-2 von 5 möglichen Komponenten: NF- κ B1 (p50, p105), NF- κ B2 (p52, p100), RelA (p65), RelB und c-Rel, als Homo- oder Heterodimer (BERTAZZA und MOCELLIN 2008, BISWAS und IGLEHART 2006, DEMSCHENKO und KUEHL 2010, SUN 2011).

Im Zytoplasma liegen NF- κ B-Proteine inaktiv und an Inhibitor-Proteine (I κ B) gebunden vor (BISWAS und IGLEHART 2006, BRACH et al. 1991, PALMER et al. 1997, SUN 2011). In Folge einer Aktivierung des trimeren Inhibitorischen- κ B-Kinasen-Komplexes (IKK α - γ) kommt es zur Phosphorylierung von I κ B und in der Folge zur Translokation von NF- κ B in den Nukleus (BERTAZZA und MOCELLIN 2008, BISWAS und IGLEHART 2006, BRACH et al. 1991, DEMSCHENKO und KUEHL 2010, EGAN et al. 2004, LOGAN et al. 2007b, MATHAS 2002, PALMER et al. 1997, SONIS 2009).

Neben diesem „klassischen Aktivierungsweg“ von NF- κ B existiert ein sogenannter „alternativer Aktivierungsweg“, der auf einer durch Phosphorylierung induzierten p100-Aktivierung basiert. Eine Stimulierung durch eine Untergruppe der Tumor Necrosis Factor Receptor- (TNFR-) Mitglieder löst diese alternative Signaltransduktion aus, welche von der NF- κ B induzierenden Kinase (NIK) und IKK α abhängig ist (DEMSCHENKO und KUEHL 2010, SUN 2011).

In Abbildung 3 sind beide Aktivierungswege von NF- κ B dargestellt.

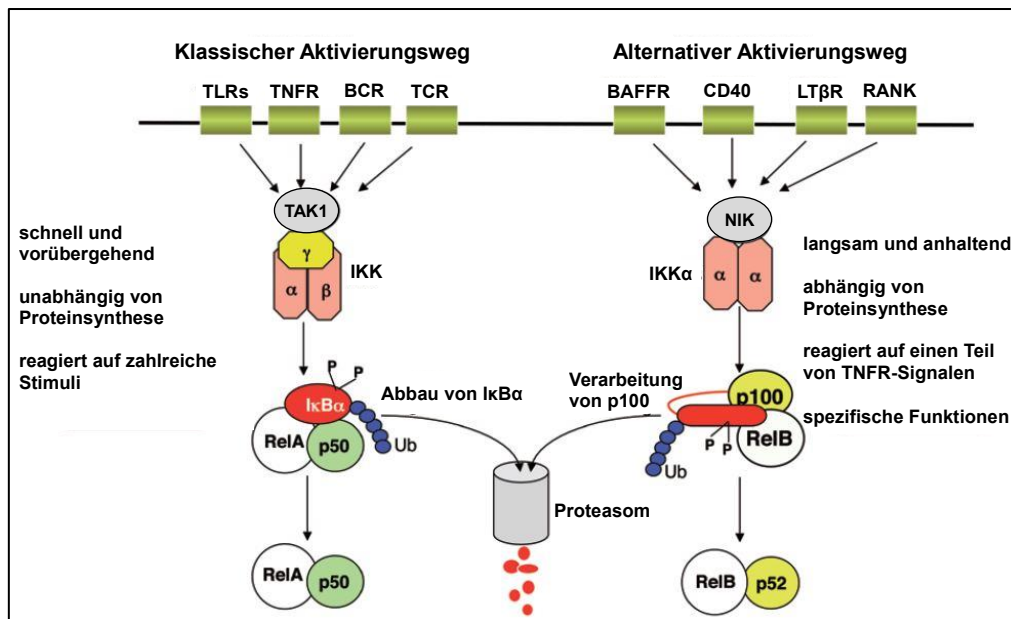


Abb. 3: Klassischer und alternativer Aktivierungsweg von NF-κB nach SUN (2011)

Die Abbildung stellt den klassischen (linke Seite) und alternativen (rechte Seite) Aktivierungsweg von NF-κB dar (Erklärung siehe Text). Sie illustriert, über welche Rezeptoren eine Aktivierung erfolgen kann und welche Eigenschaften kennzeichnend für den jeweiligen Aktivierungsweg sind.

Zu den durch NF-κB vermittelten Effekten zählen die Aktivierung weiterer Transkriptionsfaktoren, die Kontrolle des Zelltods in verschiedenen Normalgewebszellen, die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen und TNF, die Kontrolle von Zellproliferation und -reifung (insbesondere hämatopoetischer und epithelialer Zellen) und die Stimulation der Angiogenese (BERTAZZA und MOCELLIN 2008, DEMSCHENKO und KUEHL 2010, FUNAKOSHI-TAGO et al. 2008, LOGAN et al. 2007b, PALMER et al. 1997, SCARDINA et al. 2010, SONIS et al. 2004a, SONIS 2004, 2009, SUN 2011). Die Aktivierung der mukosalen NF-κB-Expression als Folge einer stimulierten Produktion proinflammatorischer Zytokine durch die Bestrahlung nimmt eine bedeutende Rolle in der Initiation der Mukositis ein (SONIS 2002, 2004, LOGAN et al. 2007a).

2.12 Celecoxib

Die vorliegenden Untersuchungen wurden sowohl für alleinige fraktionierte Bestrahlung als auch für eine zusätzliche Gabe von Celecoxib durchgeführt. Celecoxib zählt zu den sogenannten „non-steroidal antiinflammatory drugs“ (NSAIDs) (BERGH und BUDSBERG 2005). NSAIDs erzielen ihre Wirkung durch Hemmung der Cyclooxygenase (COX), einem Enzym, das den Abbau der von Membranphospholipiden freigesetzten Arachidonsäure zu Prostaglandinen und Thromboxanen katalysiert, welche wiederum verantwortlich sind für diverse Reaktionen im Organismus (BERGH und BUDSBERG 2005, KIETZMANN et al. 2007, KONTUREK und PAWLIK 1986).

Es existieren zwei Isoformen der COX (BERGH und BUDSBERG 2005, BRUNE und HINZ 2004). Die konstitutive COX-1 ist in diversen Zelltypen vorhanden und zeigt eine

physiologische Aktivität (Schutz der Magenschleimhaut, Thrombozytenaggregation, Nierendurchblutung) (BERGH und BUDSBERG 2005, KIETZMANN et al. 2007, KONTUREK und PAWLIK 1986, VANE et al. 1998). Die induzierbare COX-2 kann durch Zytokine, Wachstumsfaktoren und Bakterientoxine aktiviert werden, die bei Traumata, Entzündungen, Infektionen und Neoplasien beteiligt sind (BERGH und BUDSBERG 2005, BRUNE und HINZ 2004, Bundesanzeiger Verlag 2003, CROFFORD et al. 2000, KIETZMANN et al. 2007, SCARDINA et al. 2010, VANE et al. 1998). Auch kann eine Induktion der COX-2 in Folge einer ionisierenden Bestrahlung nachgewiesen werden (JAAL und DÖRR 2004, LANG et al. 2008, LIANG et al. 2003, LOGAN et al. 2007b).

Viele der Nebenwirkungen von nicht-selektiven NSAIDs werden durch die Hemmung der COX-1 hervorgerufen (gastrointestinale Schäden, Leber- und Nierenschäden, Störungen der Hämostase). Deshalb wurde eine Vielzahl selektiver COX-2-Hemmer entwickelt, zu denen Celecoxib gehört (BERGH und BUDSBERG 2005, Bundesanzeiger Verlag 2003, CROFFORD et al. 2000, FUNAKOSHI-TAGO et al. 2008, SINGH und TRIADAFILOPOULOS 1999).

Celecoxib besteht aus einem trizyklischen Ring und einer Sulfonamingruppe (BERGH und BUDSBERG 2005, BRUNE und HINZ 2004). Seine chemische Struktur begründet die hohe Spezifität, Sättigung und das schnelle, reversible Bindungsverhalten (HOOD et al. 2003). Beim Menschen erfolgt die Absorption nach oraler Einnahme von 400 mg Celecoxib innerhalb von maximal 3 Stunden, es wird mit einer durchschnittlichen Halbwertszeit von 11,2 Stunden metabolisiert und eliminiert (BRUNE und HINZ 2004, Bundesanzeiger Verlag 2003, HAWKEY 1999). Celecoxib ist in Deutschland in der Humanmedizin für die Behandlung von Reizzuständen bei degenerativen Gelenkerkrankungen oder chronischer Polyarthritits zugelassen (Bundesanzeiger Verlag 2003). In den USA erfolgte die Zulassung außerdem für die Behandlung von familiären adenomatösen Polypen (DORÈ 2011, LIANG et al. 2003, MAIER et al. 2004, PATEL et al. 2005, PHILLIPS et al. 2002, SEO et al. 2014). Auch in den submukösen Geweben von Patienten mit Mucositis enoralis ist die Expression der COX-2 erhöht (HAAGEN et al. 2009, LALLA et al. 2010, LOGAN et al. 2007a). Insbesondere submukosale Fibroblasten und Endothelzellen zeigen eine erhöhte Aktivität des Enzyms, die mit dem Schweregrad der Schleimhautreaktion korreliert (SONIS et al. 2004b). LIANG et al. (2003) beobachteten eine Abnahme schwerer Hautreaktionen bei der Maus nach hoher Einzeitbestrahlung mit 50 Gy und zusätzlicher Celecoxibtherapie. Jedoch bestehen relevante Unterschiede in den pathophysiologischen Prozessen von Haut und oraler Mukosa, sodass die Ergebnisse nicht auf die Mucositis enoralis übertragbar sind. Zudem ist eine extrem hohe Einzeldosis von 50 Gy nicht mit einer konventionellen, täglich fraktionierten Bestrahlung vergleichbar.

LALLA et al. (2010) untersuchten in einer Pilotstudie an 3 Patienten die Rolle des COX-2 Signalweges bei chemotherapie-induzierter Schleimhautreaktion. Es konnte ein Zusammenhang zwischen COX-2-Expression und den Schmerzen der Patienten belegt werden. Der Einfluss von Celecoxib auf die Schleimhautreaktion der Mäusezunge unter fraktionierter Bestrahlung wurde von HAAGEN et al. (2009) untersucht. Sie konnten weder einen Effekt auf den zeitlichen Verlauf der ulzerativen Mukositis (Latenzzeit und Dauer) noch auf deren Inzidenz beobachten. Somit ist anzunehmen, dass die entzündlichen

Veränderungen, die durch COX-2 vermittelt werden, für die Strahlenreaktion des Epithels nicht relevant sind.

Ähnliche Ergebnisse lieferte die doppelblind- und placebo-kontrollierte Studie von LALLA et al. (2014) an 40 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren, von denen die Hälfte täglich 200 mg Celecoxib für die Dauer der Radiotherapie erhielt. Hier konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen in Schweregrad der Mukositis, dem Einsatz von Schmerzmitteln und der Ernährung gefunden werden.

3. Zielstellung der vorliegenden Arbeit

In der vorliegenden Arbeit soll der Einfluss einer fraktionierten Bestrahlung der Mundschleimhaut auf die Expression der Proteine c-Jun und NF- κ B p50 im Rahmen der Strahlenreaktion der Mundschleimhaut untersucht werden. Weiterhin soll festgestellt werden, ob und in welchem Ausmaß die zusätzliche Gabe von Celecoxib eine Veränderung der epithelialen Proteinexpression hervorruft. So soll ermittelt werden, ob eine Interaktion zwischen den begleitenden Entzündungsreaktionen und der eigentlichen epithelialen Strahlenreaktion besteht.

Dazu wird die Expression von c-Jun und NF- κ B p50 im Zungenepithel der Maus immunhistochemisch charakterisiert und die Färbeintensität und -ausdehnung beurteilt. Für die Darstellung der Veränderungen in Schichtdicke und Zellzahl des Gesamtepithels sowie der Einzelschichten dienen histologische Schnitte nach HE-Färbung.

Als Modell für die Untersuchungen diene die Zungenunterseite von Mäusen des Stammes C3H/Neu, die einer fraktionierten Bestrahlung der Schnauze mit 3 Gy/Fraktion an den Tagen 0-4 und 7-11 unterzogen wurden. In einer Versuchsgruppe wurde den Tieren zusätzlich an den Tagen 0-13 Celecoxib in einer täglichen Dosierung von 25 mg/kg per Schlundsonde verabreicht.

4. Material und Methoden

Für die immunhistochemischen Untersuchungen wurden der Autorin der vorliegenden Arbeit Präparate aus vorangegangenen Untersuchungen zur Verfügung gestellt. Alle Maßnahmen an den Mäusen *in vivo*, inklusive der Bestrahlungen, wurden durch Frau Hanna Krohn durchgeführt (Dissertation in Vorbereitung). Die Genehmigung des tierexperimentellen Versuchsvorhabens erfolgte durch das Regierungspräsidium Dresden als zuständige Behörde gemäß der aktuellen Tierschutzgesetzgebung (Aktenzeichen 24D-9168.11-1/2006-22).

Die Autorin dieser Arbeit hat sich eingehend mit den angewandten Methoden und Techniken vertraut gemacht. Zum Verständnis der Ergebnisse und Schlussfolgerungen der vorliegenden Arbeit werden diese tierexperimentellen Verfahren hier im Detail erläutert.

4.1 Versuchstiere und Haltung

Für die vorliegenden Versuche wurden Mäuse des Wildtyp-Inzuchtstammes C3H/Neu aus der Zucht des Experimentellen Zentrums der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus der Technischen Universität Dresden verwendet. In früheren Studien konnten keine Geschlechtsunterschiede in der Strahlenreaktion der Zungenmukosa festgestellt werden (DÖRR et al. 2005a), somit wurden sowohl weibliche und auch männliche Mäuse eingesetzt. Ebenso fanden sich keine Alterseinflüsse im Bereich von 8 bis 20 Wochen (Wolfgang, Dörr, Sülzetal, 17.08.2016). Zu Versuchsbeginn lag das Alter der Tiere zwischen 8 und 17 Wochen. Die Mäuse wurden in den Räumen des Experimentellen Zentrums der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus unter spezifiziert pathogenfreien (SPF) Bedingungen gehalten. Es erfolgte eine Testung der Tiere auf die in Tabelle 6 angegebenen Viren, Bakterien, Pilze und Parasiten (FELASA Working Group on Health Monitoring of Rodent and Rabbit 2001).

Tab. 6: Keime, auf die für die spezifiziert pathogenfreien Bedingungen getestet wurde

Viren	Mäusehepatitisvirus (MHV), Reovirus Typ 3 (Reo3), Theilersches Encephalo-Myelitisvirus der Maus (TMEV), Pneumonievirus der Maus (PVM), Sendavirus
Bakterien, Pilze	Bordetella bronchiseptica, Citrobacter rhodentium, Clostridium piliformae, Corynebacterium kutscheri, E. coli, Helicobacter spp., Klebsiella oxytocea, Klebsiella pneumoniae, Mycoplasma spp., Pasteurellaceae, Proteus spp., Pseudomonas aeruginosa, Salmonella sp., Staphylococcus aureus, Streptobacillus moniliformis, β -hämolytische Streptococcus sp., Streptococcus pneumoniae
Parasiten	Aspicularis sp., Syphacia sp., Coccidien, Giardia sp., Spironucleus muris, sonstige Flagellaten, Arthropoden, Trichomonaden

Die Mäuse wurden in Gruppen von maximal 10 Tieren in Kunststoffkäfigen der Größe 3 der Firma Macrolon® (Fa. Tecniplast Deutschland GmbH, Hohenpreißenberg) bei einer Raumtemperatur von 21-24 °C und einer Luftfeuchtigkeit von 30-50 % gehalten. Ein automatisches Lichtprogramm steuerte in den Haltungsräumen einen Hell-Dunkel-Rhythmus

mit einer Lichtphase von 6 Uhr bis 18 Uhr MEZ. Die Lichtqualität erfüllte die Vorgaben der entsprechenden Tierhaltungsvorschriften. Die Einstreu der Käfige bestand aus Sägespänen (Ssniff-Bedding $\frac{3}{4}$ Faser, Fa. Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest). Den Tieren stand pelletiertes Mäuse-Standardfutter (Ssniff R/M-H, 10 mm Pellets autoklavierbar, Fa. Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest) und filtriertes Leitungswasser in Standard-Kunststoff-Trinkflaschen zur freien Verfügung.

4.2 Versuchsdurchführung

Die perkutane Bestrahlung der Tiere erfolgte mit einer Röntgenanlage Isovolt 320/13 (Fa. Seifert Röntgenwerke, Ahrensburg) mit einer Röhrenspannung von 200 kV und einem Röhrenstrom von 20 mA (Abb. 4).

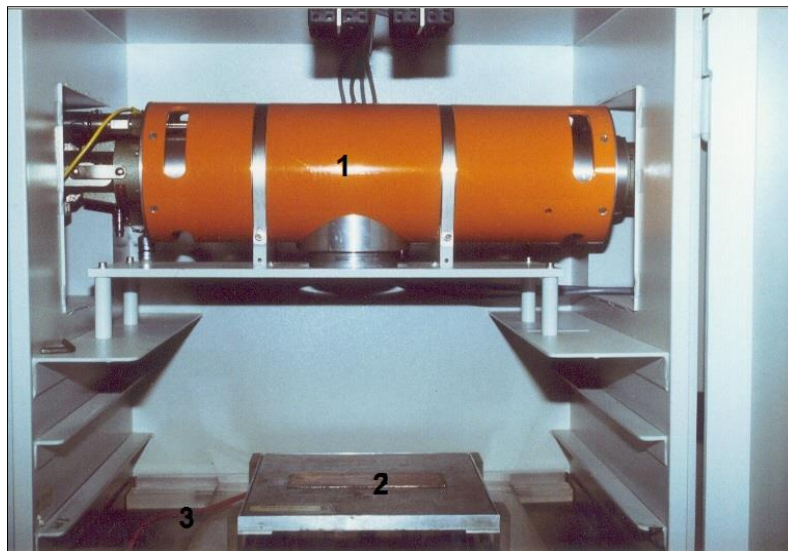


Abb. 4: Bestrahlungsanlage zur perkutanen Schnauzenbestrahlung

Dargestellt ist die Röntgenanlage *Isovolt 320/13* der Firma Seifert Röntgenwerke (1) mit dem Vollschutz-Gehäuse, dessen Tür geöffnet ist. Unter der Röntgenröhre befindet sich in der entsprechenden Halterung die Kollimatorplatte (2) mit dem Fenster zur Definierung des Bestrahlungsfeldes, in welches der Aluminium-Kupfer-Filter eingearbeitet ist. Der flexible Gummischlauch (3) der Dosimetrieinheit ist ebenfalls zu sehen.

Bei einem Fokus-Objekt-Abstand von 443 mm, mit einer Strahlfilterung durch das 7 mm dicke Berylliumfenster der Anlage sowie durch 0,6 mm Kupfer und 1 mm Aluminium wurde eine Dosisleistung von 1,03 Gy/min erreicht. Der Strahlengang war vertikal.

Es wurden maximal 8 Tiere ohne Anästhesie auf der in Abbildung 5 dargestellten, rechteckigen Plexiglasplatte fixiert. Auf der 30 cm x 33 cm großen Platte waren 2 x 4 Kunststoffröhren mit einem Innendurchmesser von 28 mm angeordnet. Den Abschluss dieser Röhren bildete jeweils ein Plexiglasblock mit 4 konischen Bohrungen (1 cm → 0,6 cm) zur standardisierten Positionierung der Schnauzen.

Ein rückwärtiger Verschluss der Röhren mit Hilfe von Styroporpfropfen, welche mit einer Aussparung zur Aufnahme des Schwanzes versehen waren, verhinderte das Zurückweichen der Tiere. Durch die Halterung der Plexiglasplatte in der Röntgenanlage (Abb. 4) wurde die exakte und reproduzierbare Positionierung der Schnauzen im Zentralstrahl gewährleistet.

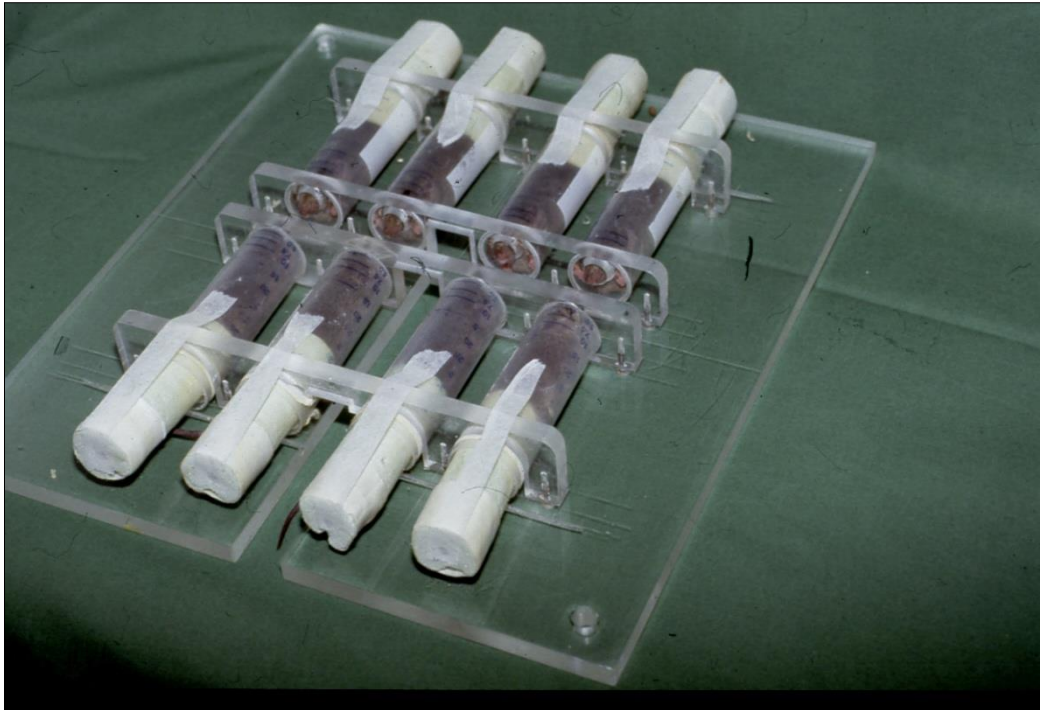


Abb. 5: Plexiglasplatte zur Fixierung der Tiere und Positionierung der Schnauzen bei externer Schnauzenbestrahlung

Auf der rechteckigen Plexiglasplatte befinden sich 8 Kunststoffröhren zur Fixierung der Tiere, die in zwei parallelen Reihen angeordnet sind. Die exakte Positionierung der Schnauzen erfolgt in einer konischen Bohrung in der Plexiglasleiste am vorderen Röhrenende. Durch rückwärtigen Verschluss der Röhren mittels Styroporstempel wird ein Zurückweichen der Mäuse verhindert.

Zur Abschirmung der Tiere kaudal einer Ebene von den Augen zum Kehlgang diente eine 33,5 cm (L) x 30 cm (B) x 1,5 cm (H) große Kollimatorplatte aus der bleiäquivalenten Legierung MCP-96 (Fa. HEK Medizintechnik, Lübeck). Das 18,5 cm x 5,5 cm große Fenster in dieser Abschirmung mit dem integrierten Strahlfilter aus Aluminium und Kupfer (Abb. 4) definierte das Bestrahlungsfeld, welches die Schnauze inklusive der gesamten Zunge, bis zu einer kaudalen Ebene von den Augen bis zur Kehle umfasste. Zwischen den individuellen Schnauzenpositionen lag die Dosishomogenität bei $\pm 3\%$.

Die Dosimetrie bei der perkutanen Bestrahlung wurde mit einer Ionisationskammer Typ Unidos 11767 (Fa. PTW, Freiburg) mit einem Kammervolumen von 0,125 cm³ durchgeführt. Über einen flexiblen Gummischlauch (Abb. 4) war die Kammer, welche sich zur Bestrahlung in schnauzengleicher Position im Zentralstrahl befand, mit einem Dosimeter vom Typ Dosimeter SN 4 (Physikalisch-Technische Werkstätten, Freiburg) verbunden. Die Kalibrierung der Dosimetrieinheit erfolgte nach Herstellervorgaben jeweils vor der Bestrahlung mit Hilfe einer

⁹⁰Sr-Kontrollvorrichtung. Nach dem Nachweis der Konstanz der Dosisleistung in regelmäßigen Tests konnte die Zieldosis über die Bestrahlungszeit definiert werden; es erfolgte eine automatische Abschaltung der Anlage nach Ablauf der vorgegebenen Zeit. Die regelmäßige Kontrolle der Dosisleistung der Anlage erfolgte durch die Medizinphysiker der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie. Da aufgrund vorangegangener Untersuchungen eine Abschwächung der Strahlung mit dem Durchtritt durch die Schädelstrukturen zu vernachlässigen war, konnte davon ausgegangen werden, dass die gemessene Dosis der Dosis im Schleimhautepithel entsprach, wobei eine homogene Dosisverteilung im Epithel selbst anzunehmen war.

4.3 Versuchsprotokoll

Alle Tiere wurden an den Tagen 0-4 und 7-11 einer täglichen perkutanen Bestrahlung mit 3 Gy/Fraktion unterzogen. Im Versuch H0 (70 Tiere) erfolgte eine alleinige Bestrahlung. Im Versuch H1 (70 Tiere) wurde den Tieren zusätzlich an den Tagen 0-13 Celecoxib verabreicht. Als Kontrolle dienten 5 unbestrahlte und unbehandelte Tiere (Versuch K).

Celecoxib (Celebrex ®) wurde von Pfizer Pharma GmbH (Berlin) in 100 mg Hartkapseln bezogen, welche in Wasser ad injectionem aufgelöst wurden. Die Lösung wurde mittels einer Schlundsonde (Knopfkanüle, gebogen, Außendurchmesser 1,2 mm, Länge 80 mm, Firma Eickemeyer, Tuttlingen) verabreicht. Die Gabe erfolgte an den Tagen 0-13 in einer täglichen Dosierung von 25 mg/kg.

4.4 Histologische Untersuchungen

Im Untersuchungszeitraum von Tag 0 bis Tag 14 wurden täglich zwischen 9 und 13 Uhr jeweils 5 Mäuse aus Versuch H0 bzw. H1 getötet, deren Zungen entnommen, präpariert und fixiert. Die Tötung der Tiere erfolgte durch Dislokation im Antlantookzipitalgelenk. Mittels einer Schere wurde die Zunge am Zungengrund abgetrennt und für mindestens 24 Stunden in Formalin fixiert.

4.4.1 Präparation der Zungen und Herstellung histologischer Schnitte

Nach der Fixation wurden die Zungen mit einem Skalpell median geteilt. Danach wurden die Präparate im Entwässerungsautomat Hypercenter XP (Fa. Shandon, Frankfurt/Main) in aufsteigender Alkoholkonzentration dehydriert und in Paraffin eingebettet. Die Anfertigung sagittaler Schnitte mit einer Dicke von 3 µm erfolgte mit Hilfe eines Rotationsmikrotoms 2065 (Fa. Reichert-Jung, Nussloch). Für die Hämatoxylin-Eosin-Färbung und die immun-histochemischen Färbungen wurden jeweils 2 Schnitte auf einen Objektträger aufgebracht.

4.4.2 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

In Tabelle 7 ist das Protokoll der durchgeführten Färbung der Präparate mit Hämatoxylin und Eosin (HE) dargestellt. Die Reagenzien finden sich im Nachgang.

Tab. 7: Protokoll der HE-Färbung

Dauer	Arbeitsschritt
3 x 10 min.	Eintauchen in Xylol
je 1 min.	absteigende Alkoholkonzentration (s.u.)
1 min.	Aqua dest.
17 min.	Mayers Hämalaun
5- 10 min.	fließendes Leitungswasser
8 min.	Eosinlösung
kurz eintauchen	Ethanol 96 %
kurz eintauchen	Ethanol 100 %
2 x 2 min.	Xylol
Eindecken	Entellan

Reagenzien für die HE-Färbung

- 0,5 % Eosinlösung (100 ml 1 % alkoholische Eosinlösung auf 100 ml Ethanol 96 %)
- Xylol (Fa. VWR)
- absteigende Alkoholreihe (Ethanol 100 %, Ethanol 96 %, Ethanol 70 %, Ethanol 40 %)
- Mayers Hämalaun = Hämatoxylin (1 g Hämatoxylin in 1 l Aqua dest., 0,2 g Natriumjodat, 50 g Aluminiumkaliumsulfat, 50 g Chloralhydrat, 1 g Zitronensäure)
- Entellan (Entellan ® neu, Merck KGaA, Darmstadt)

4.4.3 Immunhistochemie

Die Proteine c-Jun und NF-κB p50 wurden mithilfe polyklonaler Antikörper (Rabbit c-Jun (H-79): sc-1694, anti-Mouse, Santa Cruz Biotechnology, Inc.; NF-κB p50 (NLS): sc-114, anti-Mouse, Santa Cruz Biotechnology, Inc.) und der Avidin-Biotin-Komplex-Peroxidase- (ABC-) Methode markiert. Die verwendeten Färbeprotokolle sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

Tab. 8: Färbeprotokolle der c-Jun und NF-κB p50-Färbung

Dauer	Färbeschritt
3 x 10 min.	Xylol
2 x 3 min.	100 % Ethanol
3 min.	90 % Ethanol
3 min.	80 % Ethanol
3 min.	70 % Ethanol
3 min.	40 % Ethanol
5 min.	mit TBS-T waschen
	Citratpuffer in Mikrowelle aufkochen
20 min. (c-Jun)/ 10 min. (NF-κB p50)	in Citratpuffer bei 630 W kochen
15 min.	bei RTemp. abkühlen
5 min.	mit TBS-T waschen
45 min. (c-Jun)/ 10 min. (NF-κB p50)	bei RTemp. in 0,3 % (bzw. 3 % bei NF-κB p50) H ₂ O ₂
3 x 5 min.	mit TBS-T waschen
60 min.	bei RTemp. in Blockierungslösung blockieren
ün	bei 4 °C in Feuchtkammer mit 1. AK (1:150 bei c-Jun, 1:250 bei NF-κB p50) inkubieren
3 x 10 min. (c-Jun)/ 3 x 5 min. (NF-κB p50)	mit TBS-T waschen
1 h	bei RTemp. mit 2. AK (1:200) inkubieren
	ABC herstellen
3 x 10 min. (c-Jun)/ 3 x 5 min. (NF-κB p50)	mit TBS-T waschen
30 min.	bei RTemp. mit ABC inkubieren
3 x 10 min. (c-Jun)/ 3 x 5 min. (NF-κB p50)	mit TBS-T waschen
6 min. (c-Jun)/ 5 min. (NF-κB p50)	mit DAB inkubieren
	mit destilliertem H ₂ O spülen
5 min.	in destilliertem H ₂ O waschen
ca. 10 sec.	mit Hämatoxylin gegenfärben
	mit Leitungswasser spülen
5 min.	in Leitungswasser bläuen
3 min.	40 % Ethanol
3 min.	70 % Ethanol
3 min.	90 % Ethanol
3 min.	96 % Ethanol
2 x 3 min.	100 % Ethanol
2 x 5 min.	Xylol
	Eindecken mit Entellan

Reagenzien für die IHC-Färbungen

- Xylol (Fa. VWR)
- absteigende Alkoholreihe (Ethanol 100 %, Ethanol 90 %, Ethanol 80 %, Ethanol 70 %, Ethanol 40 %)
- 10 x TBS: TRIS (Trishydroxyaminomethan) 0,5 M = 30,28 g; Natriumchlorid 1,5 M = 43,83 g; auf 500 ml mit dH₂O auffüllen; pH-Wert mit HCl auf 7,6 einstellen
- TBS: 1 ml 10 x TBS + 9 ml dH₂O
- TBS-T: 100 ml 10 x TBS + 900 ml dH₂O + 500 µl Tween 20
- Citratpuffer: 18 ml 0,1 M Citronensäure (Fa. Merck), 82 ml 0,1 M Natriumcitrat (Fa. VWR); auf 1 l mit Aqua dest. Auffüllen; pH = 6,0
- Verdünnung von 30 % H₂O₂
- Blockierungslösung: 1 ml TBS + 15 µl "normal goat serum"
- 1. AK-Lösung (c-Jun Santa Cruz): 1:150
- 1. AK-Lösung (NF-κB p50): 1:250
- 2. AK-Lösung: 1:200
- ABC: 1 ml TBS + 20 µl A + 20 µl B; 30 min bei RTemp. inkubieren
- DAB: 1 ml Puffer + 20 µl DAB (Liquid DAB+Substrate Chromogen System der Firma Dako, K3467 bzw. 3468)
- Mayers Hämalaun = Hämatoxylin (1 g Hämatoxylin in 1 l Aqua dest., 0,2 g Natriumjodat, 50 g Aluminiumkaliumsulfat, 50 g Chloralhydrat, 1 g Zitronensäure)
- aufsteigende Alkoholreihe (Ethanol 40 %, Ethanol 70 %, Ethanol 90 %, Ethanol 96 %, Ethanol 100 %)
- Entellan (Entellan ® neu, Merck KGaA, Darmstadt)

Im ersten Schritt erfolgte die Entparaffinierung der Schnitte mittels Xylol, mit anschließender Rehydrierung in einer absteigenden Alkoholreihe. Nach 5-minütigem Waschen in TBS-T wurden die Objektträger bei 630 W in der Mikrowelle in Citratpuffer behandelt und anschließend 15 Minuten auf Raumtemperatur abgekühlt. Es folgte eine erneute Waschung in TBS-T und die Inkubation mit H₂O₂, um eine endogene Peroxidaseaktivität irreversibel zu hemmen. Nach wiederholtem Waschen mit TBS-T wurde die Blockierungslösung aufgetragen, welche für 60 Minuten auf den Präparaten verblieb, um eine unspezifische Bindung des Primärantikörpers zu verhindern. Über Nacht wurden die Objektträger danach mit dem entsprechenden Primärantikörper bei 4 °C in einer Feuchtkammer inkubiert. Für c-Jun wurde eine Verdünnung von 1:150, bei NF-κB p50 eine Verdünnung von 1:250 eingesetzt. Als Negativkontrolle diente Rabbit IgG (Fa. Dianova, Cat. #DLN-13121) in den Konzentrationen 1:750 (c-Jun) und 1:1250 (NF-κB p50) auf einem gesonderten Präparat auf dem gleichen Objektträger. Am darauffolgenden Tag wurden die Schnitte nach wiederholtem Waschen mit TBS-T mit dem Sekundärantikörper in einer Konzentration von 1:250 für 1 Stunde inkubiert. Anschließend erfolgte das Aufbringen der ABC-Lösung und des DAB, wobei zwischen diesen Schritten erneut mit TBS-T gewaschen wurde. Nach Spülung in destilliertem Wasser wurden die Präparate mittels Hämatoxylin gefärbt, anschließend mit Leitungswasser gebläut und da-

nach in aufsteigender Alkoholreihe dehydriert. Abschließend erfolgte das Eintauchen in Xylol und Eindecken mit Entellan. Die verwendeten Reagenzien sind im Anschluss an Tabelle 8 aufgelistet.

4.5 Histologische Auswertung

Die Präparate wurden mit einem Lichtmikroskop (Axoplan, Fa. Carl Zeiss Jena) bei 400-facher Vergrößerung beurteilt. Die Auswertung umfasste pro Schnitt mindestens 2 mm Epithellänge innerhalb des Bereiches zwischen Übergang vom papillenträgenden zum papillenfreien Epithel und dem Zungengrund.

Es wurde die Anzahl kernhaltiger Zellen der Germinativschicht und der funktionellen Schicht erfasst. Die Auswertung erfolgte pro Längeneinheit Epithel, wobei Undulationen der Basalmembran unberücksichtigt blieben. Außerdem erfolgte die Messung der Schichtdicke von Germinativschicht, funktioneller Schicht und Keratinschicht an je drei repräsentativen Stellen pro Schnitt mit Hilfe eines Zählrasters (5 x 5 Quadrate zu je 50 µm Seitenlänge).

In den immunhistochemisch gefärbten Präparaten erfolgte die Einteilung der Zellen in drei Färbegrade. Negativ gefärbte (-) Zellkerne stellten sich blau (Färbegrad 0), schwach gefärbte Zellkerne (-/+) blau mit braunen Granula (Färbegrad 1) und stark gefärbte Zellkerne (+) mit braun gefärbtem Zellkern (Färbegrad 2) dar.

4.6 Statistische Auswertung

Bei den HE-Schnitten wurde die Zellzahl in mindestens 10 Rastern á 200 µm ausgezählt, die Werte für jedes Tier gemittelt, auf 1 mm Epithellänge normiert und der Mittelwert der 5 Tiere des Beobachtungstages mit dem jeweiligen Standardfehler (SEM) berechnet. Die Schichtdicke des Epithels wurde bei jedem Tier an drei repräsentativen Stellen ermittelt und der Mittelwert der Versuchstiergruppe mit dem jeweiligen Standardfehler (SEM) berechnet. Neben den absoluten Zellzahlen und Schichtdicken wurden die prozentualen Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe (n = 5) ermittelt. Bei den immunhistochemischen Färbungen wurden die absoluten und relativen Zellzahlen der negativ, schwach und stark positiv gefärbten Zellen für die jeweilige Epithelschicht analog zu den HE-gefärbten Schnitten aus den Mittelwerten der 5 Tiere ermittelt. Die relativen Werte beschreiben dabei den prozentualen Anteil der entsprechend (negativ, schwach oder stark positiv) gefärbten Zellen in Relation zur Gesamtzellzahl der jeweiligen Schicht.

Die Erfassung der Daten erfolgte mit den Programmen Apache OpenOffice.org Calc Version 3.3 und SigmaPlot for Windows Version 11.0. Aufgrund der geringen Tierzahlen je Untersuchungszeitpunkt und Versuchsgruppe wurde auf statistische Untersuchungen verzichtet. Es erfolgte ausschließlich eine beschreibende Beurteilung der Ergebnisse.

5. Ergebnisse

Es folgt eine Übersicht über die Ergebnisse der einzelnen Analysen. Die detaillierten Daten sind in den Tabellen im Anhang aufgeführt, auf welche jeweils im Text verwiesen wird.

5.1 Zellzahlen

Im Versuch H0 erfolgte eine fraktionierte Bestrahlung mit 3 Gy/Tag an den Tagen 0-4 und 7-11. Die epithelialen Zellzahlen wurden an den Tagen 0-14 bestimmt. Im Versuch H1 erfolgte eine zusätzliche Gabe von Celecoxib an den Tagen 0-13 (Anhang Tab. 13, Tab. 14).

5.1.1 Zellzahlen im unbehandelten Epithel

Die mittlere Zellzahl im Epithel der Zungenunterseite beträgt 402 ± 11 pro Millimeter Epithellänge (Tab. 9). In der Germinativschicht befinden sich davon 70 % der Zellen (281 ± 8), in der Funktionsschicht 30 % (121 ± 4).

Tab. 9: Absolute und relative Zellzahlen pro mm Epithellänge im unbehandelten Epithel (n=5)

	Zellzahl/mm \pm 1 SEM	Relative Zellzahl in %
Gesamtepithel	402 \pm 11	100
Germinativschicht	281 \pm 8	70
Funktionelle Schicht	121 \pm 4	30

5.1.2 Zellzahlen nach alleiniger Bestrahlung und zusätzlicher Gabe von Celecoxib

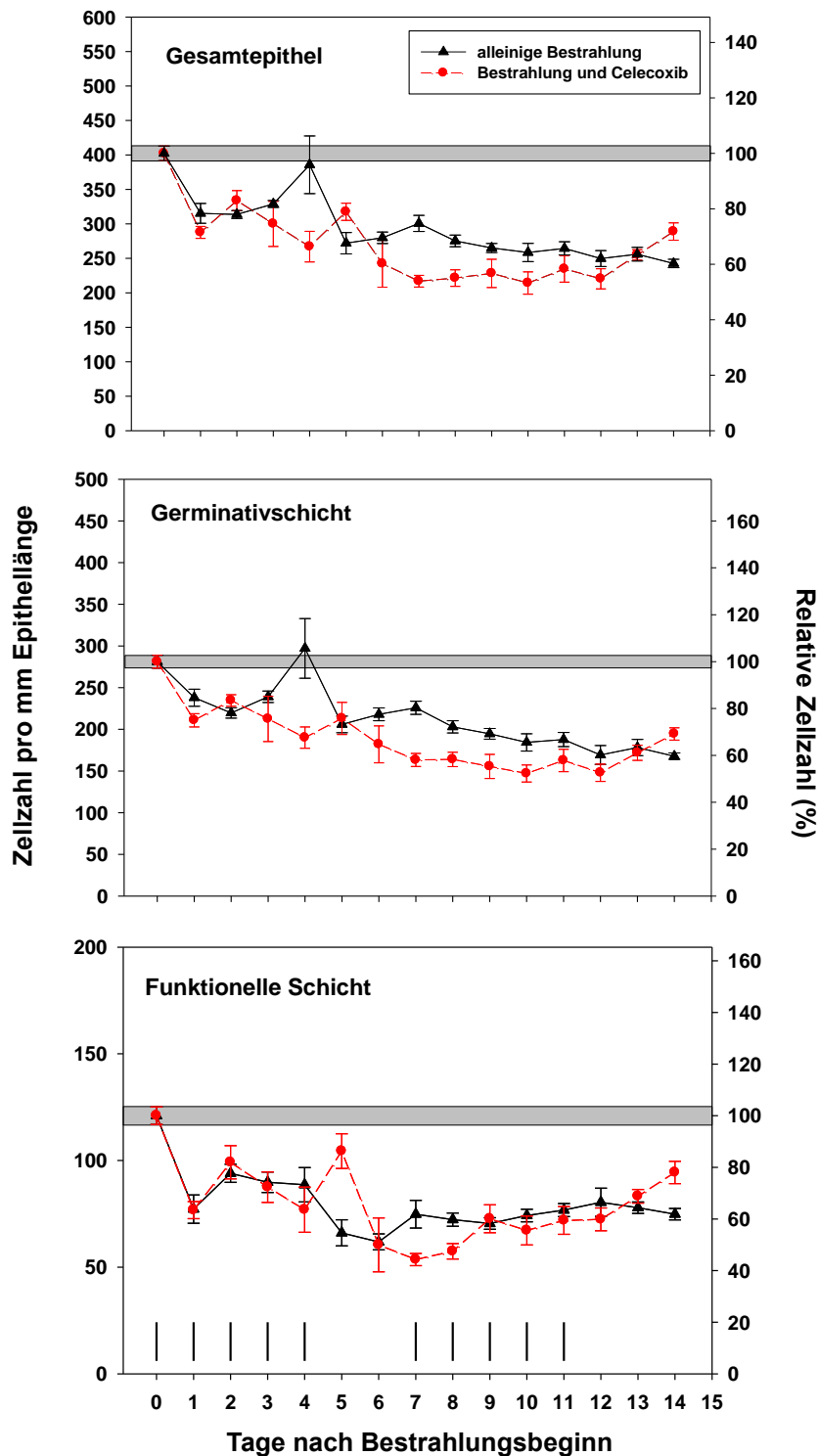


Abb. 6: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der mittleren Zellzahl im gesamten Epithel (obere Abb.) und gesondert für die Germinativ- (mittlere Abb.) und die funktionelle Schicht (untere Abb.) als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen \pm Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) \pm SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

5.1.2.1 Zellzahlen nach alleiniger Bestrahlung

Ab Tag 1 nach Beginn der Bestrahlung tritt eine deutliche Abnahme der Gesamtzellzahl ein, die an Tag 2 78 % der Zellzahl des unbehandelten Gewebes erreicht. Nach einem Anstieg der Gesamtzellzahl auf 96 % an Tag 4 folgt erneut ein Abfall der Werte. An den Tagen 5-14 sinken die Zellzahlen weiter langsam ab, bis sie an Tag 14 ihr Minimum von 243 ± 3 Zellen/mm (60 %) erreichen.

In der Germinativschicht sinkt die Zellzahl an Tag 2 gleichfalls auf 78 % des Ausgangswertes, entsprechend einer Zellzahl von 220 ± 6 pro mm Epithellänge. Es folgt ein Anstieg auf 297 ± 36 Zellen/mm (106 %) an Tag 4, bevor die Werte anschließend kontinuierlich bis zum letzten Beobachtungstag auf 168 ± 4 Zellen/mm (60 %) abfallen.

In der Funktionsschicht zeigt sich eine ausgeprägte Zellabnahme auf 64 % (77 ± 7 Zellen/mm) bereits einen Tag früher als in der Germinativschicht. An den Tagen 2-4 bewegt sich die Anzahl der Zellen mit 73-78 % auf einem etwas höheren Niveau, gefolgt von einer erneuten Reduktion bis auf ein Minimum von 62 ± 4 Zellen/mm (51 %) an Tag 6. An den darauffolgenden Tagen befinden sich die Zellzahlen im Bereich von durchschnittlich 62 % des Kontrollwertes und bleiben bis zum Ende des Versuchs annähernd konstant.

5.1.2.2 Zellzahlen nach Bestrahlung und Gabe von Celecoxib

Bei fraktionierter Bestrahlung und gleichzeitiger Gabe von Celecoxib (Versuch H1) sinkt die Gesamtzellzahl an Tag 1 ähnlich wie bei alleiniger Bestrahlung auf 288 ± 9 Zellen/mm (72 %). Nach einer geringen Zellzunahme am Folgetag schließt sich ein erneuter Abfall bis zum 4. Tag nach Bestrahlungsbeginn auf 66 % (267 ± 22 Zellen/mm) an. Am 5. Beobachtungstag nimmt die Zellzahl auf 318 ± 13 Zellen/mm (79 %) zu, bevor sich die Werte an den Tagen 6-12 im Bereich um 53-60 % einpegeln. Das Minimum wird an Tag 10 mit 214 ± 16 Zellen/mm (53 %) vermutlich früher erreicht als bei alleiniger fraktionierter Bestrahlung ohne Celecoxibgabe. In den letzten beiden Beobachtungstagen nimmt die Zellzahl erneut zu und erreicht am 14. Tag 289 ± 13 Zellen/mm (72 %). Im gesamten Beobachtungszeitraum liegen die Gesamtzellzahlen im Versuch H1 scheinbar im Wesentlichen unterhalb derjenigen ohne Celecoxibgabe.

In der Germinativschicht sinkt die Zellzahl bereits am 1. Tag nach Bestrahlungsbeginn auf 211 ± 8 Zellen/mm (75 %). Unter geringen Schwankungen nehmen die Werte kontinuierlich ab und erreichen mit 52 % des Ausgangswertes (147 ± 10 Zellen/mm) ihr Minimum an Tag 10. An den letzten beiden Beobachtungstagen nimmt die Zellzahl wieder geringgradig zu und liegt an Tag 14 bei 195 ± 7 Zellen/mm (69 %). Im gesamten Beobachtungszeitraum liegen die Zellzahlen der Germinativschicht im Versuch H1 anscheinend unterhalb derjenigen ohne Celecoxibgabe.

Der Verlauf der Zellzahlen in der funktionellen Schicht erscheint ähnlich dem des Versuchs H0. Nach einem Abfall an Tag 1 auf 77 ± 4 Zellen/mm (63 %) folgt eine Zunahme an Tag 2 auf 99 ± 8 Zellen/mm (82 %), bevor die Werte bis zum 4. Tag langsam abnehmen. Mit 86 % des Ausgangswerts erreicht die Zellzahl an Tag 5 den höchsten Wert nach Bestrahlungsbeginn,

fällt jedoch bereits am Folgetag auf 60 ± 13 Zellen/mm (50 %) ab und steigt im weiteren Verlauf bis zum Ende des Beobachtungszeitraums kontinuierlich an. Das Minimum mit 44 % wird am 7. Tag nach Bestrahlungsbeginn und somit vermutlich einen Tag später als im Versuch H0 erreicht. Am letzten Versuchstag liegt die Zellzahl mit 94 ± 5 Zellen/mm (78 %) vermutlich über der im Versuch ohne Celecoxibtherapie.

5.2 Epitheldicke

Im Versuch H0 erfolgte eine fraktionierte Bestrahlung mit 3 Gy/Tag an den Tagen 0-4 und 7-11. Die Epitheldicken wurden an den Tagen 0-14 bestimmt. Im Versuch H1 erfolgte eine zusätzliche Gabe von Celecoxib an den Tagen 0-13 (Anhang Tab. 15, Tab. 16).

5.2.1 Epitheldicke im unbehandelten Epithel

Die mittlere Dicke des Gesamtepithels der Zungenunterseite beträgt 68 ± 3 μm (Tab. 10). Die funktionelle Schicht macht mit 56 % den größten Anteil aus, während Germinativ- und Keratinschicht je 22 % einnehmen.

Tab. 10: Absolute und relative Schichtdicke im unbehandelten Epithel (n=5)

	Schichtdicke in $\mu\text{m} \pm 1$ SEM	Relative Schichtdicke in %
Gesamtepithel	68 ± 3	100
Germinativschicht	15 ± 1	22
Funktionelle Schicht	38 ± 4	56
Keratinschicht	15 ± 1	22

5.2.2 Epitheldicke nach alleiniger Bestrahlung und zusätzlicher Gabe von Celecoxib

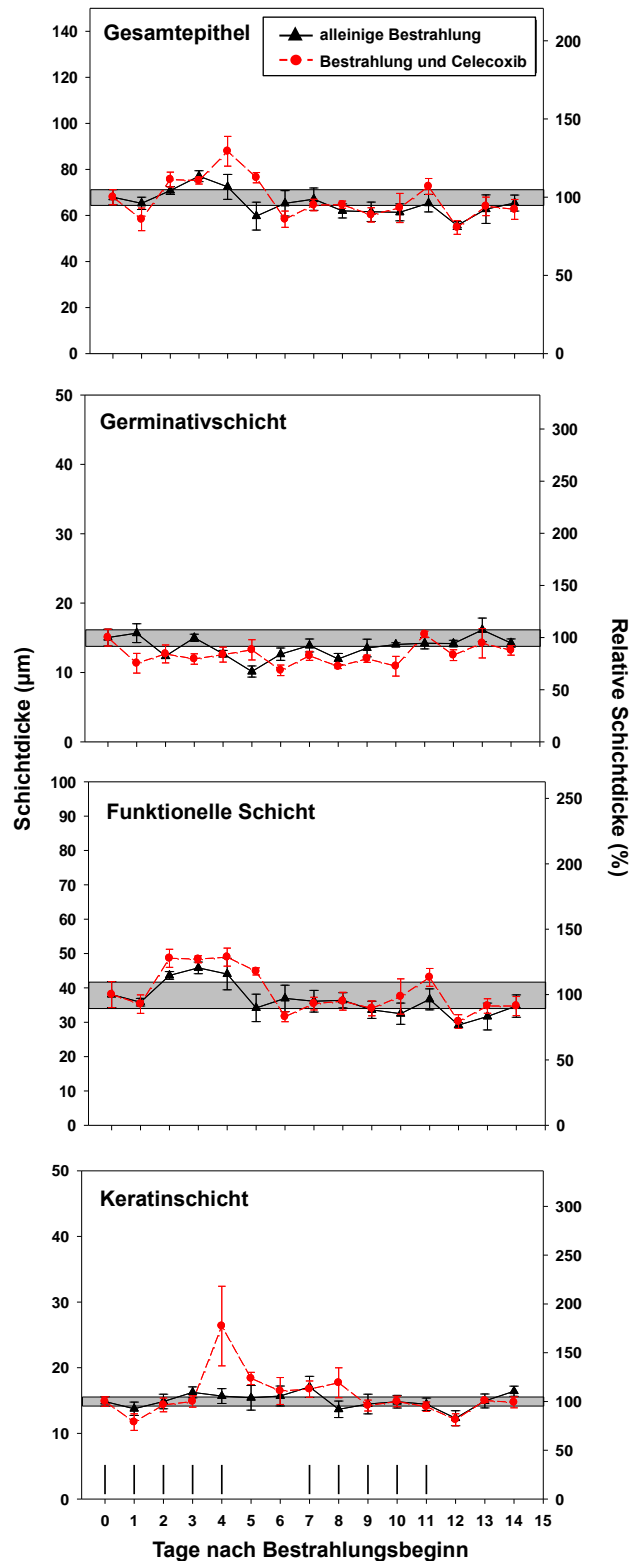


Abb. 7: Epitheldicke unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der mittleren Dicke des Gesamtepithels und gesondert für die einzelnen Schichten als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen \pm Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) \pm SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

5.2.2.1 Epitheldicke nach alleiniger Bestrahlung

Bei alleiniger Bestrahlung nimmt die Dicke des Gesamtepithels ab Tag 2 nach Bestrahlungsbeginn zu und erreicht ihr Maximum an Tag 3 mit $77 \pm 2 \mu\text{m}$ (113 %). Bis zum 5. Tag sinken die Werte wieder und bewegen sich im weiteren Verlauf nur geringfügig unterhalb der Kontrollwerte. In der Germinativ- und Keratinschicht liegen die Dicken fast im gesamten Verlauf im normalen bis subnormalen Bereich, wobei die funktionelle Schicht den größten Anteil der Dickenzunahme des Gesamtepithels ausmacht. Sie erreicht an Tag 3 mit 120 % ihr Maximum und bewegt sich ab dem 5. Tag nach Bestrahlungsbeginn im Kontrollbereich oder geringfügig darunter.

5.2.2.2 Epitheldicke nach Bestrahlung und Gabe von Celecoxib

Bei Behandlung mit Celecoxib wird das Maximum der Gesamtepitheldicke scheinbar einen Tag später erreicht und liegt mit $88 \pm 6 \mu\text{m}$ (129 %) im Vergleich zur alleinigen Bestrahlung vermutlich höher. Ab dem 6. Behandlungstag scheint der Verlauf beider Versuchsgruppen gleichsinnig. Bei Betrachtung der einzelnen Epithelschichten lassen sich sowohl in der Germinativschicht als auch der funktionellen Schicht keine wesentlichen Unterschiede zwischen Celecoxibgabe und alleiniger fraktionierter Bestrahlung vermuten. Lediglich an Tag 2-6 bewegen sich die Werte in der funktionellen Schicht vermutlich geringfügig über denen bei alleiniger Bestrahlung. In der Keratinschicht hingegen zeigt sich an Tag 4 mit $26 \pm 6 \mu\text{m}$ (177 %) wahrscheinlich ein ausgeprägteres Maximum, während im weiteren Verlauf wiederum keine wesentlichen Abweichungen zu vermuten sind.

5.3 C-Jun-Expression

Im Versuch H0 erfolgte eine fraktionierte Bestrahlung mit 3 Gy/Tag an den Tagen 0-4 und 7-11. Die c-Jun-Expression wurde an den Tagen 0-14 bestimmt. Im Versuch H1 erfolgte eine zusätzliche Gabe von Celecoxib an den Tagen 0-13 (Anhang Tab. 17-Tab. 22).

5.3.1 C-Jun-Expression im unbehandelten Epithel

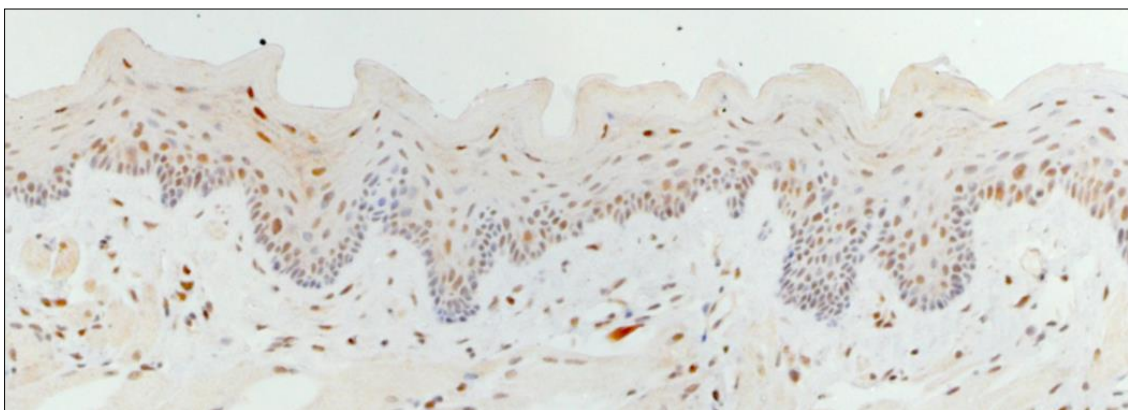


Abb. 8: Immunhistochemische Färbung von c-Jun im unbestrahlten Zungenepithel der Maus

In Abbildung 8 und Tabelle 11 ist die Expression von c-Jun im nativen Epithel dargestellt und zusammengefasst. Im Gesamtepithel färben sich 46 % der Zellen schwach und 35 % stark positiv an. In der Germinativschicht ist mit 54 % der größte Anteil an Zellen schwach c-Jun-positiv gefärbt, während 27 % eine starke Expression zeigen. In der funktionellen Schicht sind mit 55 % scheinbar deutlich mehr Zellen stark angefärbt im Vergleich zu 25 % der schwach c-Jun exprimierenden Zellen. Der Anteil an ungefärbten Zellen ist in der Germinativschicht und der funktionellen Schicht mit 19 % bzw. 20 % annähernd gleich.

Tab. 11: C-Jun-Expression im unbehandelten Epithel (n=5)

	c-Jun-negativ Zellzahl/mm ± 1 SEM	schwach c-Jun-positiv Zellzahl/mm ± 1 SEM	stark c-Jun-positiv Zellzahl/mm ± 1 SEM
Gesamtepithel	92 ± 24 (19 %)*	232 ± 41 (46 %)	168 ± 18 (35 %)
Germinativschicht	65 ± 18 (19 %)	197 ± 36 (54 %)	93 ± 10 (27 %)
Funktionelle Schicht	27 ± 16 (20 %)	35 ± 6 (25 %)	75 ± 9 (55 %)

* Die relativen Zellzahlen in der Tab. definieren den Anteil an entsprechend gefärbten Zellen an der gesamten Schicht.

5.3.2 C-Jun-Expression nach alleiniger Bestrahlung und zusätzlicher Gabe von Celecoxib

Die Abbildungsserie in Abbildung 9 illustriert exemplarisch die histomorphologischen Veränderungen und die Veränderungen des Expressionsmusters von c-Jun im murinen Zungenepithel am 1., 3., 5., 10., 11. und 14. Tag nach fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy sowie nach zusätzlicher Celecoxibtherapie.





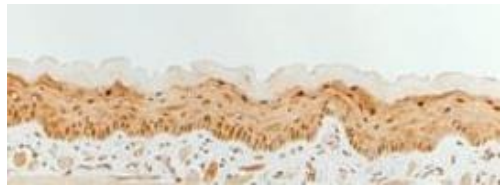

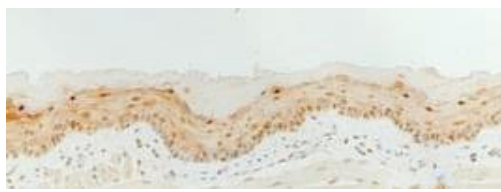





Tag	10x3 Gy	10x3 Gy + Celecoxib
1		
3		
5		
10		
11		
14		

Abb. 9: Überblick über die charakteristischen histomorphologischen Unterschiede bei immunhistochemischer Färbung von c-Jun nach fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne und mit Celecoxibtherapie

5.3.2.1 C-Jun-Expression im Gesamtepithel

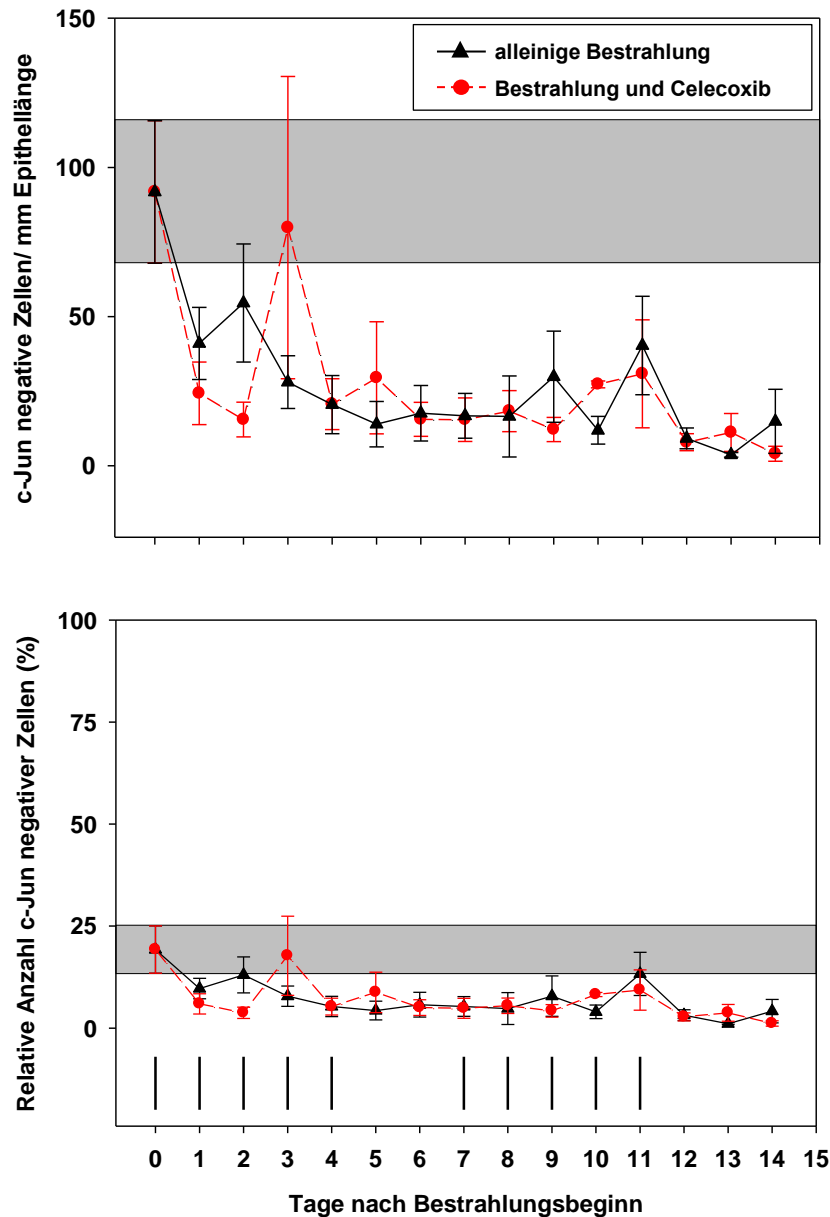


Abb. 10: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen c-Jun-negativer Zellen des Gesamtepithels als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen ± Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) ± SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Im Normalepithel exprimieren 92 ± 24 Zellen/mm (19 %) kein c-Jun. Im Versuch H0 nimmt die Anzahl am 1. Bestrahlungstag mit 41 ± 12 Zellen/mm (10 %) deutlich ab und bewegt sich zwischen dem 3. und 14. Tag mit geringen Schwankungen bei etwa 19 Zellen/mm. Bei zusätzlicher Celecoxibtherapie ist der Abfall der Zellzahl c-Jun-negativer Zellen am 1. mit 24 ± 11 Zellen/mm (6 %) und 2. Beobachtungstag mit 15 ± 6 Zellen/mm (4 %) scheinbar

deutlicher ausgeprägt. Im weiteren Verlauf lassen sich zwischen beiden Versuchsgruppen keine Unterschiede vermuten. Betrachtet man im Versuch H0 die relativen Zellzahlen im Gesamtepithel, die kein c-Jun exprimieren, zeigen sich vermutlich weniger starke Veränderungen unter fraktionierter Bestrahlung als bei den absoluten Zellzahlen. Ausgehend von 19 % c-Jun-negativer Zellen vor Bestrahlungsbeginn fällt der Wert bereits am 1. Beobachtungstag auf 10 % ab und verhält sich an den darauffolgenden Tagen nahezu konstant. Zwischen beiden Versuchsgruppen können wahrscheinlich keine Unterschiede festgestellt werden. Die Werte liegen fast ausnahmslos unterhalb der Kontrolle.

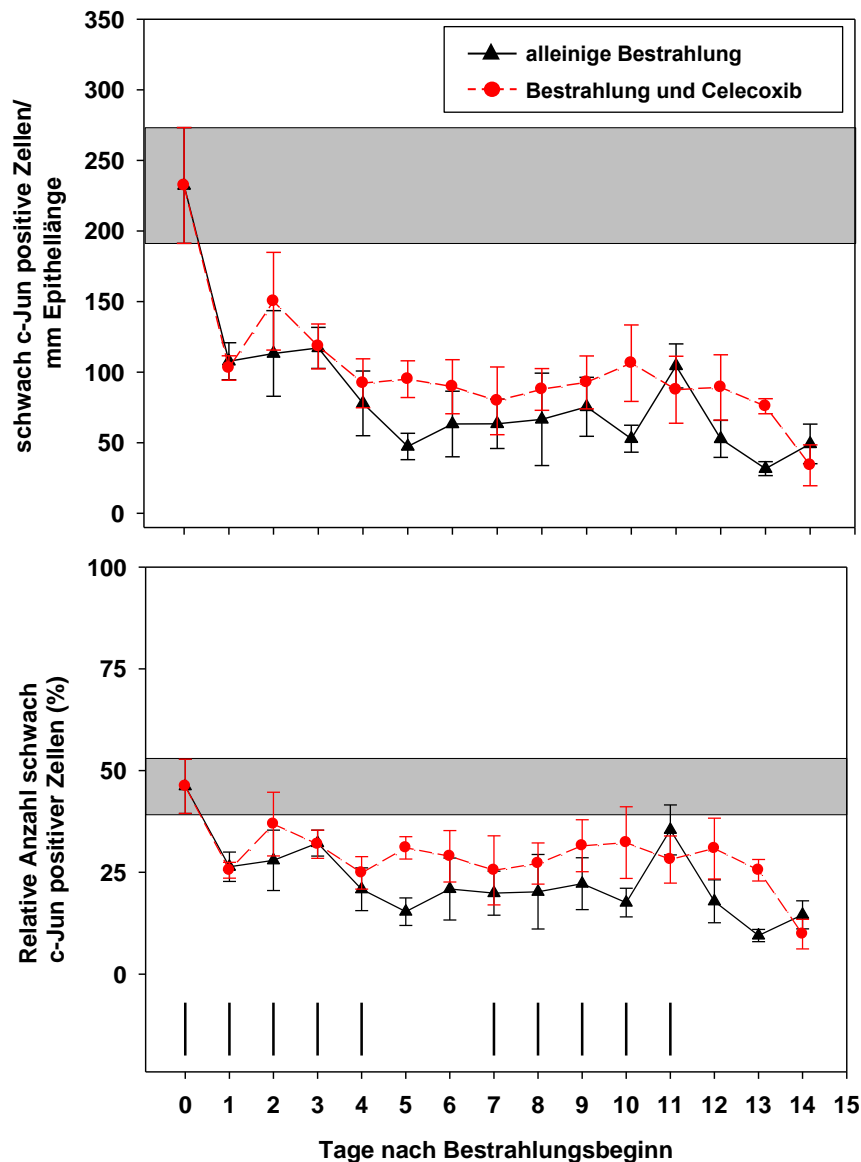


Abb. 11: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen schwach c-Jun-positiver Zellen des Gesamtepithels als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen \pm Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) \pm SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Die Anzahl schwach c-Jun-positiver Zellen im Gesamtepithel bei alleiniger fraktionierter Bestrahlung fällt bereits am 1. Bestrahlungstag von 232 ± 41 auf 108 ± 13 Zellen/mm ab. Am 5. Beobachtungstag reduziert sich die Anzahl wiederum deutlich auf 47 ± 9 Zellen/mm. In den darauffolgenden Tagen bleiben die absoluten Werte nahezu konstant, bis sie an Tag 11 mit 104 ± 16 Zellen/mm erneut ansteigen. An den Tagen 12-14 ist die Anzahl schwach c-Jun-positiver Zellen wieder geringer und erreicht am letzten Beobachtungstag einen Wert von 49 ± 14 Zellen/mm. Bei Bestrahlung mit zusätzlicher Celecoxibapplikation ist der Verlauf der schwach c-Jun-positiven Zellen im Gesamtepithel bis zum 3. Bestrahlungstag anscheinend im Wesentlichen gleichsinnig zu den Werten im Versuch H0. An Tag 4-13 (mit Ausnahme von Tag 11) liegt die Anzahl dieser Zellpopulation mit Celecoxibgabe vermutlich deutlich höher, bevor sich beide Versuchsgruppen am letzten Beobachtungstag wieder angleichen.

Die relative Anzahl schwach c-Jun-positiver Zellen fällt am 1. Bestrahlungstag auf 26 % ab. An Tag 4 folgt eine weitere Reduktion auf 21 %. Anschließend bleibt der Anteil dieser Zellpopulation zwischen 15 und 32 %, bevor am 11. Beobachtungstag ein kurzfristiger Anstieg auf 35 % beobachtet werden kann. In den restlichen Tagen des Versuchs erreichen die relativen Werte mit 9-18 % ihr Minimum. Bei zusätzlicher Celecoxibtherapie scheinen die Werte meist geringfügig über denen des Versuchs H0 zu liegen, lassen aber insgesamt einen gleichsinnigen Verlauf vermuten. An Tag 14 gleichen sich die Werte beider Versuchsgruppen wieder an.

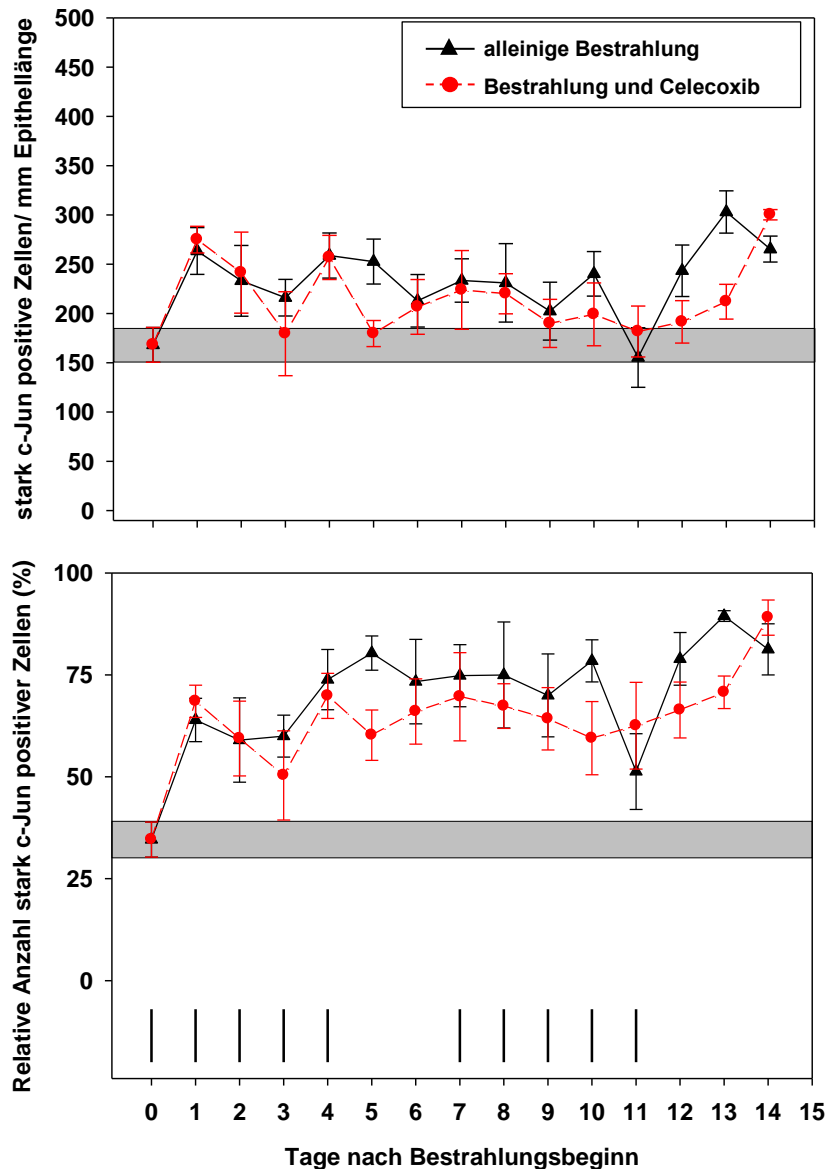


Abb. 12: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen stark c-Jun-positiver Zellen des Gesamtepithels als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen \pm Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) \pm SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Bereits am 1. Bestrahlungstag steigt die Anzahl stark c-Jun-positiv gefärbter Zellen im Gesamtepithel von 168 ± 18 Zellen/mm der Kontrolle auf 263 ± 24 Zellen/mm an. Im weiteren Verlauf unterliegt die Zellzahl nur geringen Schwankungen, bewegt sich jedoch weiterhin oberhalb der Kontrolle, bevor am 11. Beobachtungstag ein starker Abfall auf 155 ± 30 Zellen/mm zu verzeichnen ist. Im Anschluss steigt die Anzahl stark c-Jun exprimierender Zellen wieder an und erreicht an Tag 13 mit 303 ± 21 Zellen/mm ihr Maximum. Bei Betrachtung der relativen Anzahl stark c-Jun-positiv gefärbter Zellen wird gleich nach Bestrahlungsbeginn ein Anstieg von 35 % im Normalepithel auf 64 % sichtbar. Es folgt eine weitere Zunahme auf 80 % am 5. Behandlungstag. Im weiteren Beobachtungszeitraum bleiben

die Werte mit Ausnahme eines Abfalls an Tag 11 auf 51 % stabil, bis sie am 13. Tag mit 89 % ihr Maximum erreichen. Im Versuch H1 lässt sich ein ähnlicher Verlauf mit geringfügig niedrigeren Werten an den Tagen 3-10 und 12-13 vermuten. Zum Ende des Beobachtungszeitraums gleichen sich die Werte beider Versuchsgruppen an.

5.3.2.2 C-Jun-Expression in der Germinativschicht

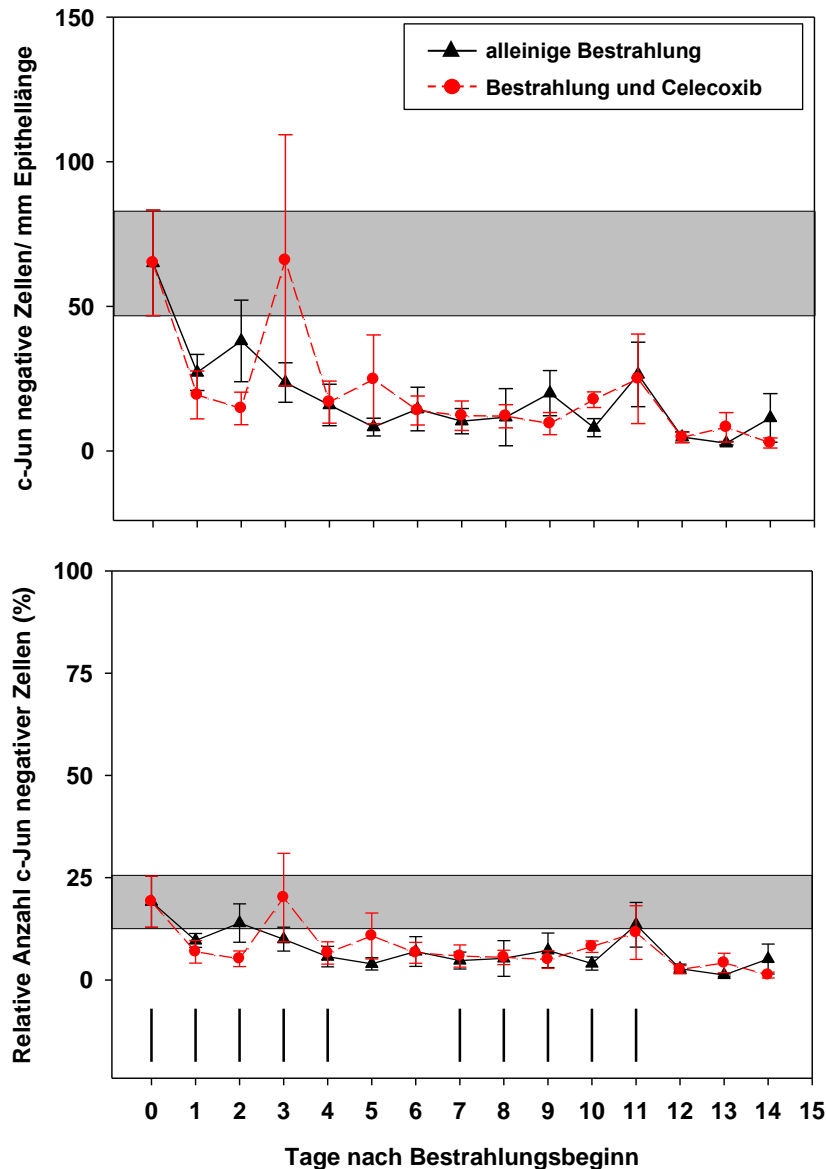


Abb. 13: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen c-Jun-negativer Zellen in der Germinativschicht als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen ± Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) ± SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Zu Bestrahlungsbeginn exprimieren 65 ± 18 Zellen/mm (19 %) kein c-Jun. Im Versuch H0 fällt die Anzahl am 1. Bestrahlungstag auf 27 ± 6 Zellen/mm (10 %) ab und sinkt weiter auf 8 ± 3 Zellen/mm am 5. Tag. Im weiteren Verlauf ist die Anzahl c-Jun-negativer Zellen unter geringen Schwankungen konstant. Ihr Minimum wird an Tag 13 mit 3 ± 1 Zellen/mm erreicht.

Bei zusätzlicher Celecoxibtherapie ist der Verlauf der absoluten und relativen Anzahl c-Jun-negativer Zellen wahrscheinlich gleichsinnig.

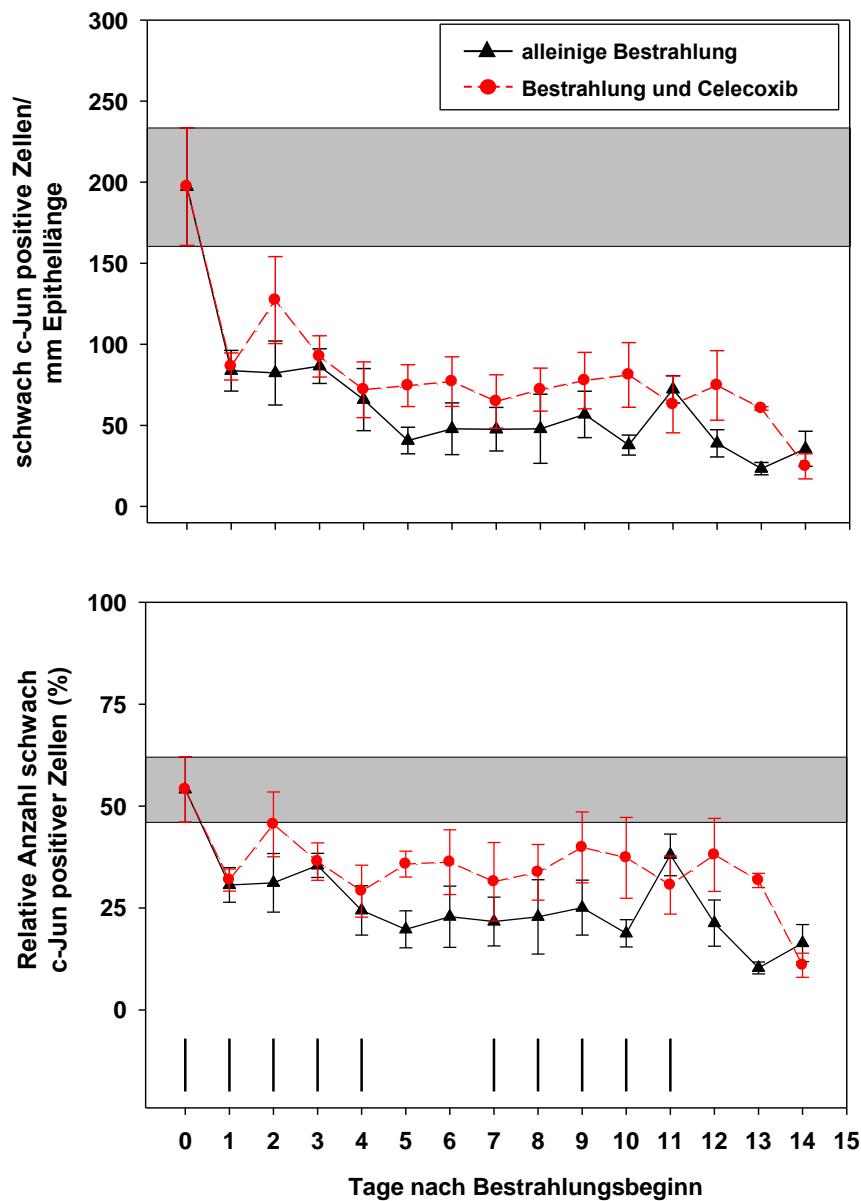


Abb. 14: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen schwach c-Jun-positiver Zellen der Germinativschicht als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen ± Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) ± SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Die Anzahl schwach c-Jun-positiver Zellen in der Germinativschicht bei alleiniger fraktionierter Bestrahlung fällt am 1. Bestrahlungstag von ursprünglich 197 ± 36 Zellen/mm auf 84 ± 13 Zellen/mm ab. Am 4. Beobachtungstag sinkt die Zellzahl erneut und erreicht am 5. Tag 41 ± 8 Zellen/mm. In den darauffolgenden Tagen bleiben die absoluten Werte nahezu konstant bis sie an Tag 11 mit 72 ± 8 Zellen/mm ansteigen. An den Tagen 12-14 ist die Anzahl schwach

c-Jun exprimierender Zellen vermutlich geringer und erreicht ihr Minimum mit 23 ± 4 Zellen/mm am 13. Tag nach Bestrahlungsbeginn.

Bei Bestrahlung mit zusätzlicher Celecoxibapplikation liegt die Anzahl der schwach c-Jun-positiven Zellen in der Germinativschicht vermutlich im Wesentlichen über derjenigen im Versuch H0. Der Unterschied scheint insbesondere an den Beobachtungstagen 5-10 und 12-13 ausgeprägt.

Die relative Anzahl schwach c-Jun-positiver Zellen fällt am 1. Bestrahlungstag von ursprünglich 54 % auf 31 % ab und fällt weiter bis zum Tag 5 (20 %). Bis zum 11. Beobachtungstag nehmen die relativen Werte wieder zu und erreichen mit 38 % ihr Maximum. In den letzten 3 Versuchstagen ist der Anteil schwach c-Jun-positiver Zellen der Germinativschicht mit 10-21 % anscheinend wieder geringer. Fast im gesamten Beobachtungszeitraum liegen die relativen Werte im Versuch H1 mit Celecoxibapplikation wahrscheinlich oberhalb derjenigen im Versuch H0. An den Tagen 6-10 und 12-13 ist diese Zellpopulation vermutlich um durchschnittlich 15 % größer. Am letzten Beobachtungstag gleichen sich die Werte beider Versuchsgruppen vermutlich wieder an und sind mit 16 % (H0) bzw. 11 % (H1) annähernd gleich.

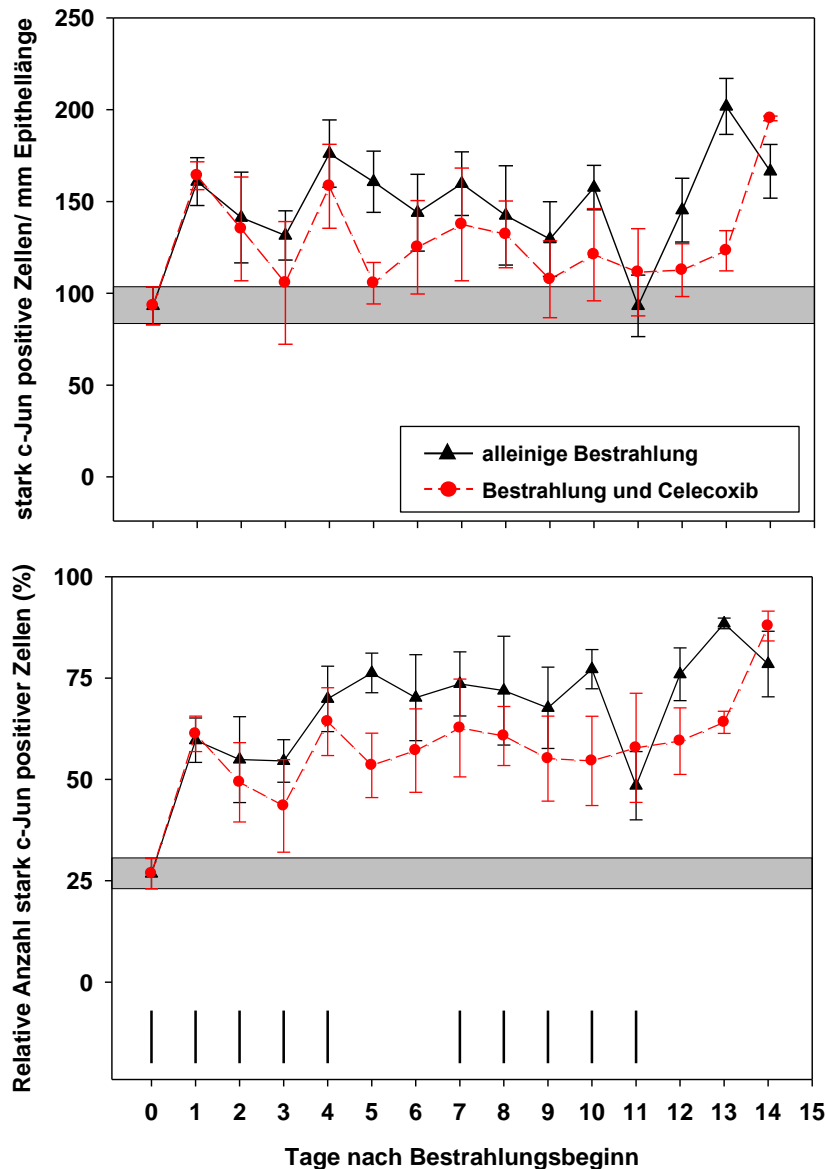


Abb. 15: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen stark c-Jun-positiver Zellen der Germinativschicht als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen ± Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) ± SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Zu Bestrahlungsbeginn nimmt die absolute Anzahl stark c-Jun exprimierender Zellen in der Germinativschicht gegenüber der Kontrolle mit 93 ± 10 Zellen/mm deutlich zu und erreicht an Tag 1 161 ± 13 Zellen/mm. Einem geringen Abfall an Tag 2-3 folgt eine erneute Zunahme am 4. Tag auf 176 ± 18 Zellen/mm. Die Zellzahl unterliegt danach geringen Schwankungen und erreicht am 11. Tag mit 93 ± 17 Zellen/mm wieder das Ausgangsniveau. Anschließend steigen die Werte wieder deutlich an. Das Maximum von 202 ± 15 Zellen/mm wird an Tag 13 erreicht und fällt am letzten Versuchstag auf 166 ± 15 Zellen/mm. Im Versuch mit fraktionierter Bestrahlung und zusätzlicher Celecoxibgabe scheinen die absoluten Zellzahlen stark c-Jun-positiver Zellen der Germinativschicht im Wesentlichen unterhalb derer des Versuchs H0 zu liegen und sich an Tag 14 nach Bestrahlungsbeginn wieder anzugleichen.

Die relativen Werte dieser Zellpopulation steigen am 1. Tag auf etwa das Doppelte des Ausgangswertes (60 %) an. Am 4. Bestrahlungstag sind ca. 70 % der Zellen in der Germinativschicht stark c-Jun-positiv gefärbt. In den darauffolgenden Tagen bleibt der Anteil nahezu konstant, fällt schließlich am 11. Beobachtungstag auf 48 %, bevor er zum Ende des Versuchs erneut ansteigt und an Tag 14 bei 78 % liegt. Im Versuch H1 bewegen sich die Werte scheinbar fast im gesamten Zeitraum unterhalb derer mit alleiniger Bestrahlung und gleichen sich zum Versuchsende aneinander an.

5.3.2.3 C-Jun-Expression in der funktionellen Schicht

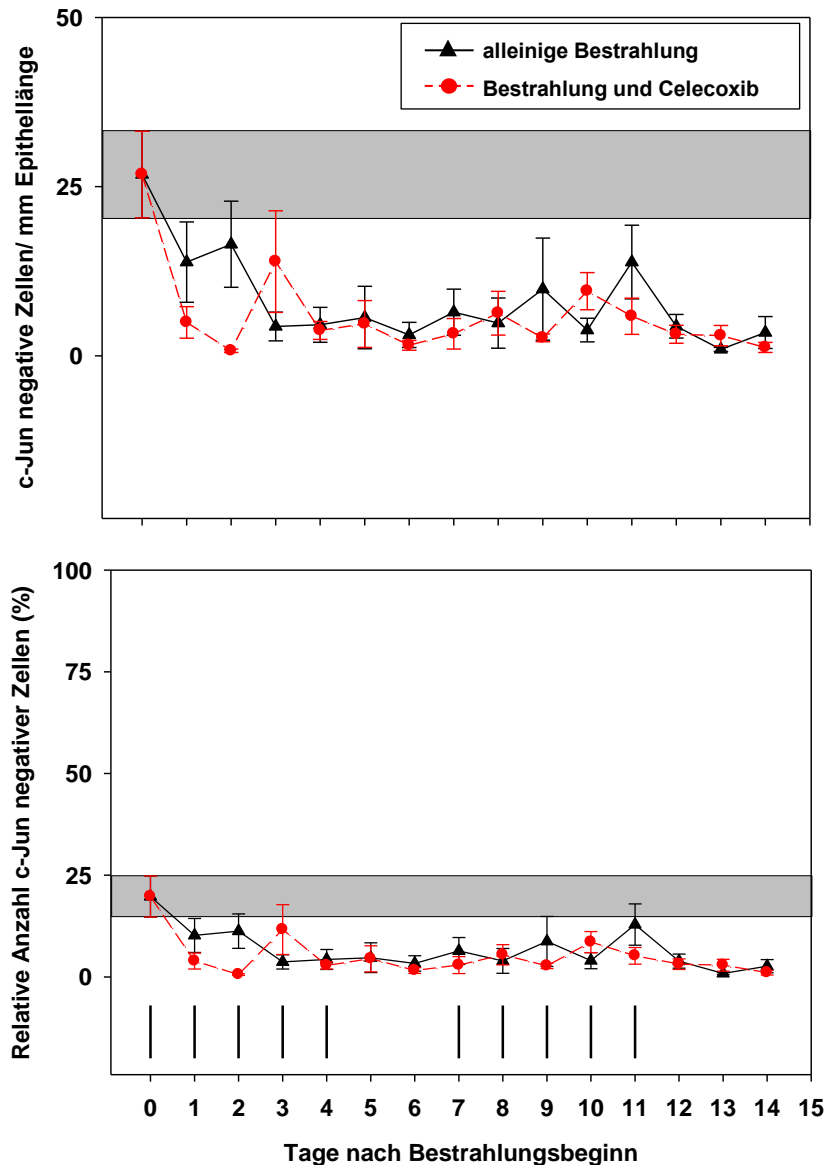


Abb. 16: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen c-Jun-negativer Zellen der funktionellen Schicht als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen ± Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) ± SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Die Anzahl der Zellen in der funktionellen Schicht, die kein c-Jun exprimieren, nimmt im Versuch mit alleiniger fraktionierter Bestrahlung bis zum 3. Tag nach Bestrahlungsbeginn von 27 ± 6 auf 4 ± 2 Zellen/mm ab und bleibt im weiteren Beobachtungszeitraum unter geringen Schwankungen konstant auf diesem niedrigen Niveau. Zwischen beiden Versuchsgruppen H0 und H1 bestehen vermutlich keine substantiellen Unterschiede.

Der prozentuale Anteil c-Jun-negativer Zellen in der funktionellen Schicht nimmt von ursprünglich 20 % in der Kontrolle auf einen relativen Wert von 3 % am 6. Beobachtungstag ab. Im weiteren Verlauf bleiben die Werte nahezu konstant und bewegen sich stets unterhalb der Kontrolle. Bei zusätzlicher Celecoxibapplikation können scheinbar keine wesentlichen Unterschiede zur alleinigen Bestrahlung festgestellt werden.

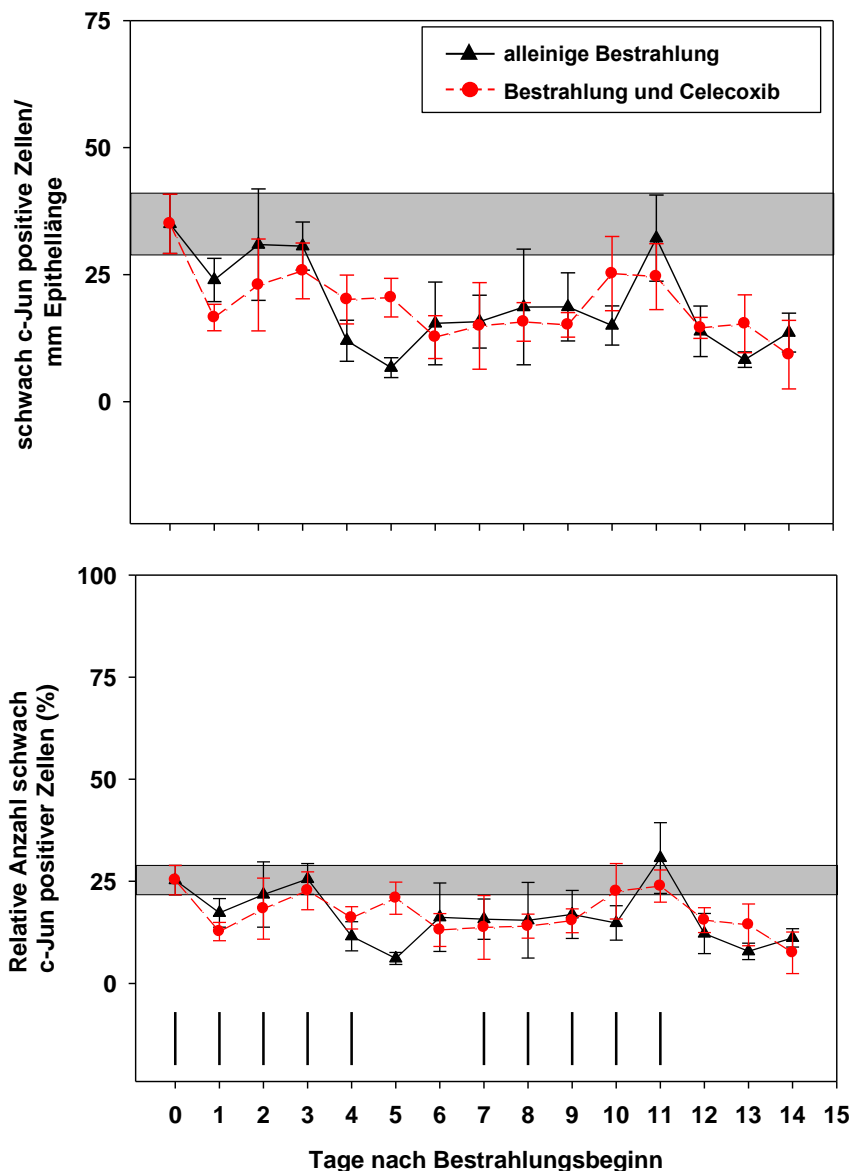


Abb. 17: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen schwach c-Jun-positiver Zellen der funktionellen Schicht als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen \pm Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) \pm SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Schwach c-Jun exprimierende Zellen der funktionellen Schicht nehmen im Vergleich zum Normalepithel mit 35 ± 6 Zellen/mm mit Bestrahlungsbeginn ab und erreichen am 5. Tag mit 7 ± 2 Zellen/mm ihr Minimum. Bis zum Ende des Versuchs bleibt die Zellzahl annähernd gleich, mit Ausnahme einer geringen Zunahme am 11. Beobachtungstag auf 32 ± 8 Zellen/mm. Der Anteil schwach c-Jun-positiver Zellen der funktionellen Schicht bewegt sich im gesamten Beobachtungszeitraum beider Versuchsgruppen wahrscheinlich geringfügig unterhalb bzw. im Bereich der Kontrolle.

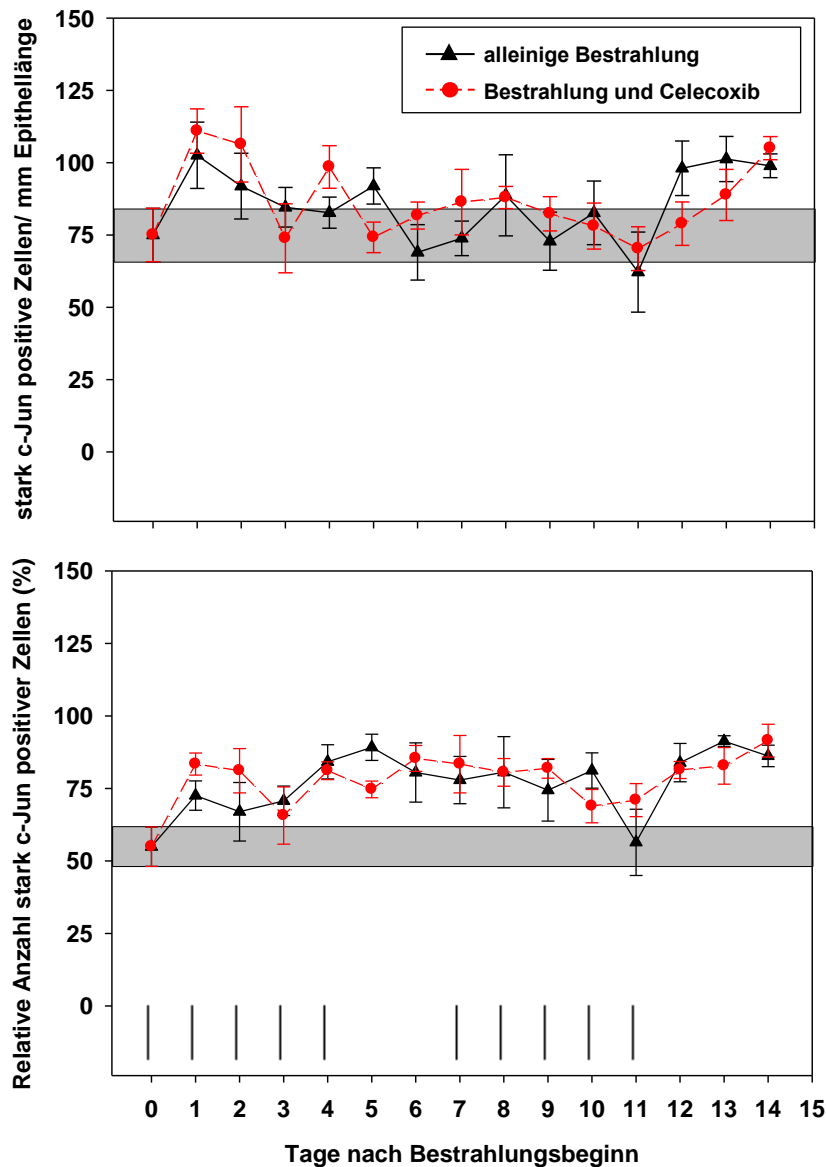


Abb. 18: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen stark c-Jun-positiver Zellen der funktionellen Schicht als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen ± Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) ± SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Die relativen Werte dieser Zellpopulation fallen von ursprünglich 25 % am 5. Bestrahlungstag auf 6 % ab. Bis zum Tag 11 nimmt der relative Anteil schwach c-Jun exprimierender Zellen der

funktionellen Schicht dann wieder zu und erreicht mit 31 % sein Maximum, bevor er zum letzten Beobachtungstag wieder auf 11 % abfällt. Im Versuch H1 erscheint der Verlauf gleichsinnig mit Ausnahme des fehlenden Minimums an Tag 5.

Stark c-Jun exprimierende Zellen der funktionellen Schicht nehmen mit Bestrahlungsbeginn von 75 ± 9 Zellen/mm auf 103 ± 11 Zellen/mm zu, fallen jedoch anschließend wieder kontinuierlich ab und erreichen am 4. Tag 83 ± 5 Zellen/mm. An den Tagen 6-11 bewegen sich die Werte im Bereich der Kontrolle. Die größte Zellzahl stark c-Jun-positiver Zellen wird mit 98 ± 9 bis 101 ± 8 Zellen/mm in der funktionellen Schicht an den Tagen 12-14 erreicht. Im Versuch mit zusätzlicher Celecoxibgabe sind keine wesentlichen Unterschiede zu vermuten. Der relative Anteil stark c-Jun exprimierender Zellen bei alleiniger fraktionierter Bestrahlung nimmt bis zum 5. Tag nach Bestrahlungsbeginn auf 89 % zu und bleibt bis Tag 10 unter geringen Schwankungen konstant. Nach einem Minimum an Tag 11 mit 56 % wird am 13. Bestrahlungstag mit 91 % das Maximum erreicht. Zwischen den relativen Werten beider Versuchsgruppen kann anscheinend kein substantieller Unterschied festgestellt werden.

5.4 NF-κB p50-Expression

Im Versuch H0 erfolgte eine fraktionierte Bestrahlung mit 3 Gy/Tag an den Tagen 0-4 und 7-11. Die NF-κB p50-Expression wurde an den Tagen 0-14 bestimmt. Im Versuch H1 erfolgte eine zusätzliche Gabe von Celecoxib an den Tagen 0-13 (Anhang Tab. 23-Tab. 28).

5.4.1 NF-κB p50-Expression im unbehandelten Epithel

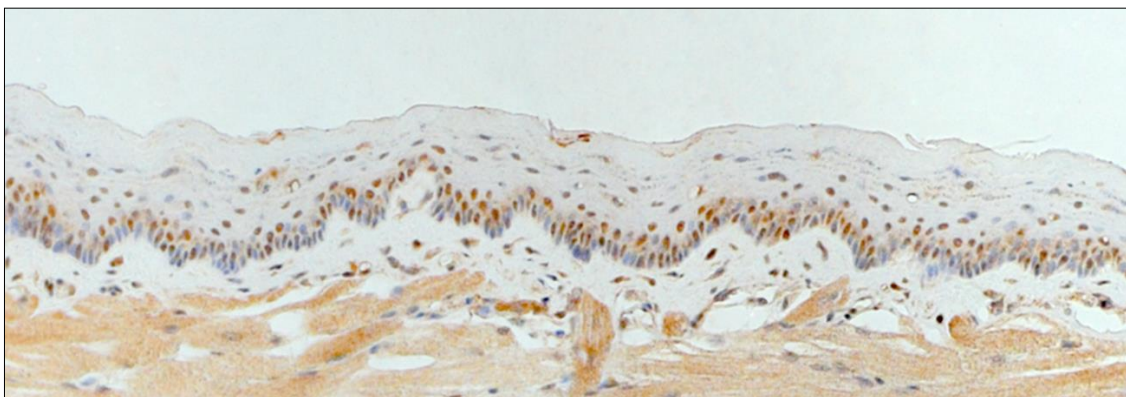


Abb. 19: Immunhistochemische Färbung von NF-κB p50 im unbestrahlten Zungenepithel der Maus

In Abbildung 19 und Tabelle 12 ist die Expression von NF-κB p50 im nativen Epithel dargestellt und zusammengefasst. Im Gesamtepithel färben sich 35 % der Zellen schwach und 44 % stark NF-κB p50-positiv an. In der Germinativschicht ist mit 47 % der größte Anteil an Zellen stark NF-κB p50-positiv gefärbt, während 37 % eine schwache Expression zeigen. In der funktionellen Schicht ist die Zellpopulation, die kein NF-κB p50 exprimiert, mit 34 % vermutlich deutlich größer als in der Germinativschicht. Der Anteil an schwach und stark NF-κB p50-positiven Zellen ist in der funktionellen Schicht mit 31 % bzw. 35 % annähernd gleich.

Tab. 12: NF-κB p50-Expression im unbehandelten Epithel (n=5)

	NF-κB p50-negativ Zellzahl/mm ± 1 SEM	schwach NF-κB p50-positiv Zellzahl/mm ± 1 SEM	stark NF-κB p50- positiv Zellzahl/mm ± 1 SEM
Gesamtepithel	94 ± 22 (21 %)*	163 ± 18 (35 %)	202 ± 39 (44 %)
Germinativschicht	49 ± 13 (15 %)	122 ± 14 (37 %)	157 ± 28 (47 %)
Funktionelle Schicht	45 ± 12 (34 %)	41 ± 4 (31 %)	45 ± 13 (35 %)

* Die relativen Zellzahlen in der Tab. definieren den Anteil an entsprechend gefärbten Zellen an der gesamten Schicht.

5.4.2 NF-κB p50-Expression nach alleiniger Bestrahlung und zusätzlicher Gabe von Celecoxib

Die Abbildungsserie in Abbildung 20 illustriert exemplarisch die histomorphologischen Veränderungen und die Veränderungen des Expressionsmusters von NF-κB p50 im murinen Zungenepithel am 1., 3., 7., 8. und 14. Tag nach fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy bzw. nach zusätzlicher Celecoxibtherapie.



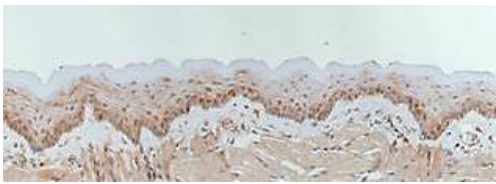


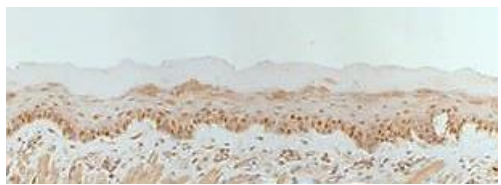




Tag	10x3 Gy	10x3 Gy + Celecoxib
1		
3		
7		
8		
14		

Abb. 20: Überblick über die charakteristischen histomorphologischen Unterschiede bei immunhistochemischer Färbung von NF-κB p50 bei fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

5.4.2.1 NF-κB p50-Expression im Gesamtepithel

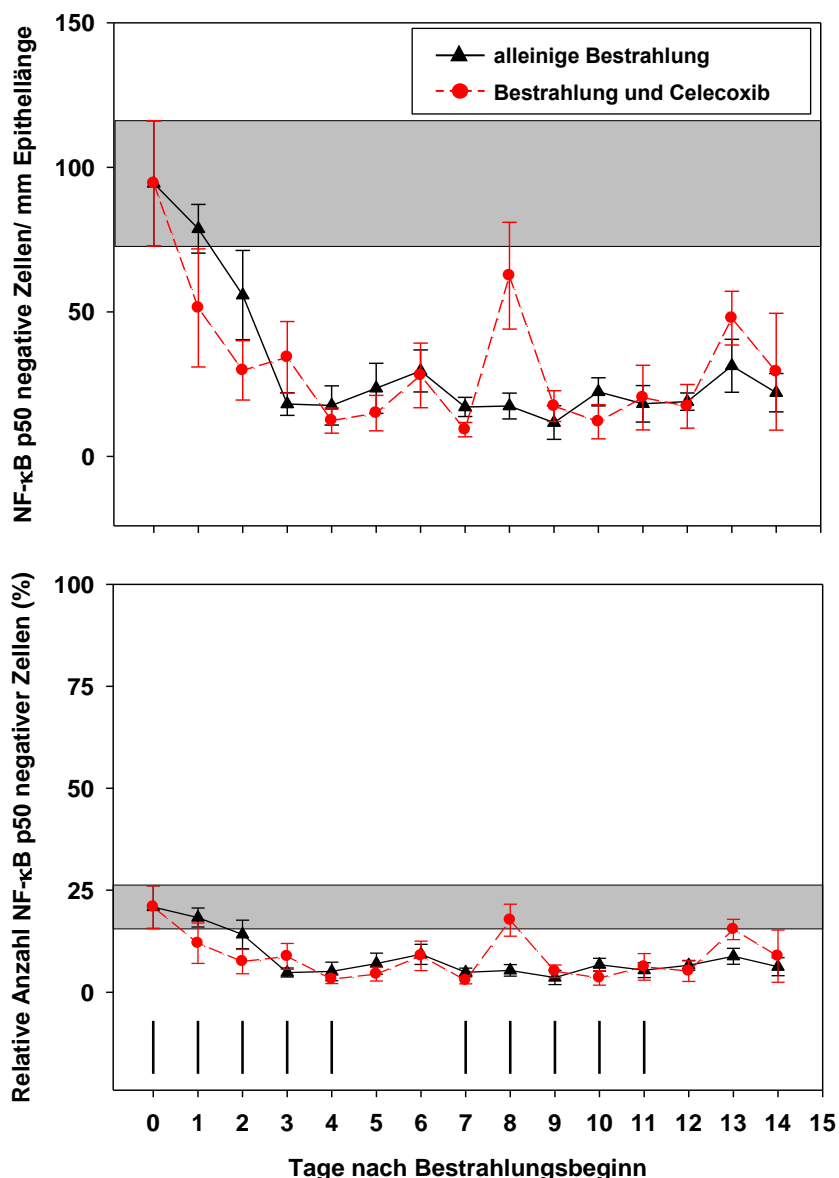


Abb. 21: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen NF-κB p50-negativer Zellen des Gesamtepithels als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen ± Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) ± SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Zu Bestrahlungsbeginn exprimieren 94 ± 22 Zellen/mm im Gesamtepithel kein NF-κB p50. Im Versuch H0 nimmt die Anzahl bis zum 3. Bestrahlungstag auf 18 ± 4 Zellen/mm ab und verhält sich in den darauffolgenden Untersuchungstagen unter geringen Schwankungen konstant. Bei zusätzlicher Celecoxibgabe ist kein Unterschied der absoluten Zahlen NF-κB p50-negativer Zellen zu vermuten. Lediglich am 8. Tag nach Bestrahlungsbeginn erreicht diese Zellpopulation mit 63 ± 18 Zellen/mm vermutlich einen wesentlich höheren Wert als bei alleiniger Bestrahlung (17 ± 4 Zellen/mm).

In Versuchsgruppe H0 fällt der relative Anteil der Zellen im Gesamtepithel, die kein NF-κB p50 exprimieren, bis zum 3. Beobachtungstag von ursprünglich 21 % auf 5 % ab und verhält sich an den darauffolgenden Tagen nahezu konstant. Zwischen beiden Versuchsgruppen können scheinbar keine Unterschiede festgestellt werden.

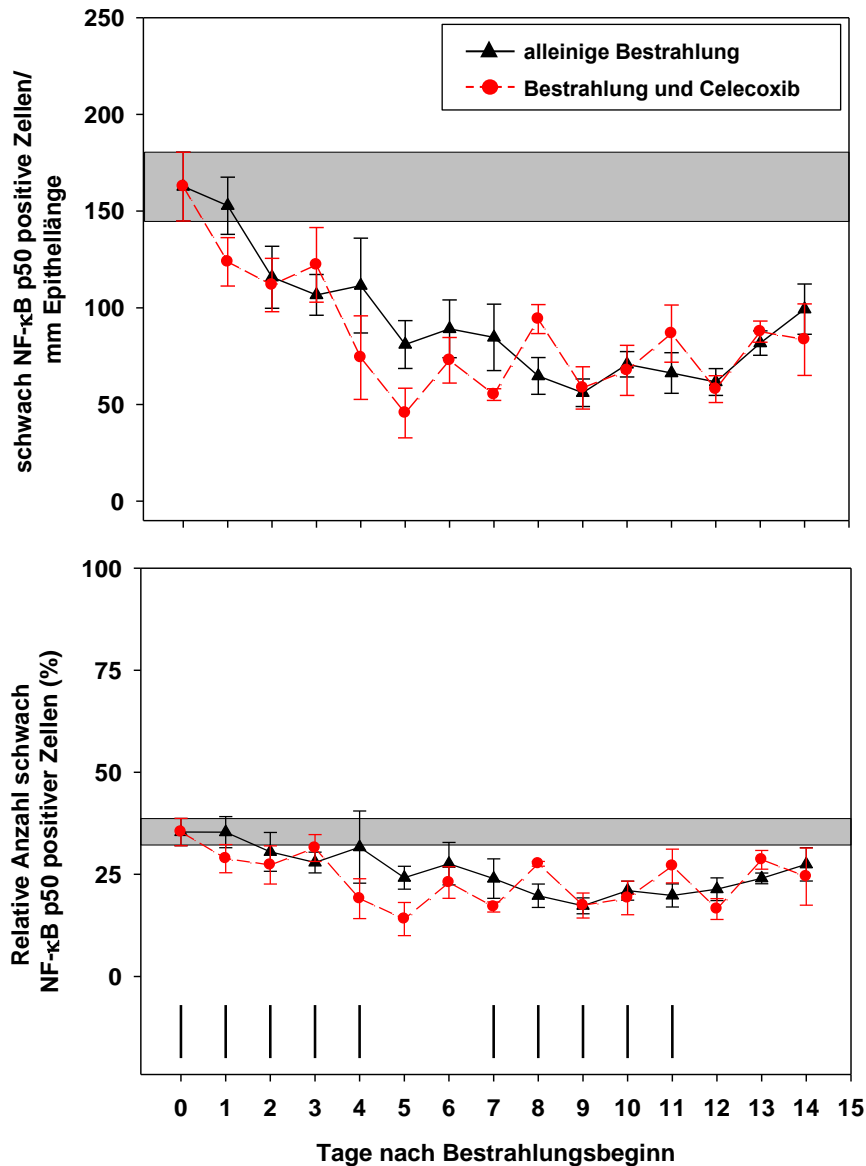


Abb. 22: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen schwach NF-κB p50-positiver Zellen des Gesamtepithels als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen ± Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) ± SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Die Anzahl schwach NF-κB p50-positiver Zellen im Gesamtepithel bei alleiniger fraktionierter Bestrahlung fällt kontinuierlich bis zum 9. Bestrahlungstag von ursprünglich 163 ± 18 auf 56 ± 7 Zellen/mm ab. In den darauffolgenden Versuchstagen bleibt die Zellzahl konstant. Am

13. und 14. Tag nach Bestrahlungsbeginn nimmt die Anzahl schwach NF-κB p50 exprimierender Zellen zu und erreicht am letzten Tag 99 ± 13 Zellen/mm. Bei Bestrahlung mit zusätzlicher Celecoxibapplikation erscheint der Verlauf der Anzahl NF-κB p50-positiver Zellen im Gesamtepithel im Wesentlichen gleichsinnig zu den Werten im Versuch H0. An den Tagen 4-7 liegt die Anzahl dieser Zellpopulation vermutlich geringfügig unterhalb derer ohne Celecoxibgabe, am 8. Tag nach Bestrahlungsbeginn mit 94 ± 7 Zellen/mm scheinbar geringfügig darüber. Die relative Anzahl schwach NF-κB p50-positiver Zellen fällt nach Beginn der fraktionierten Bestrahlung sehr langsam und erreicht an Tag 9 mit 17 % ihr Minimum. Bis zum letzten Beobachtungstag steigt der Anteil schwach NF-κB p50 exprimierender Zellen im Gesamtepithel langsam wieder an und liegt an Tag 14 mit 27 % nur minimal unterhalb der Kontrolle (35 %).

Bei zusätzlicher Celecoxibtherapie zeigen die Werte anscheinend insgesamt einen gleichsinnigen Verlauf.

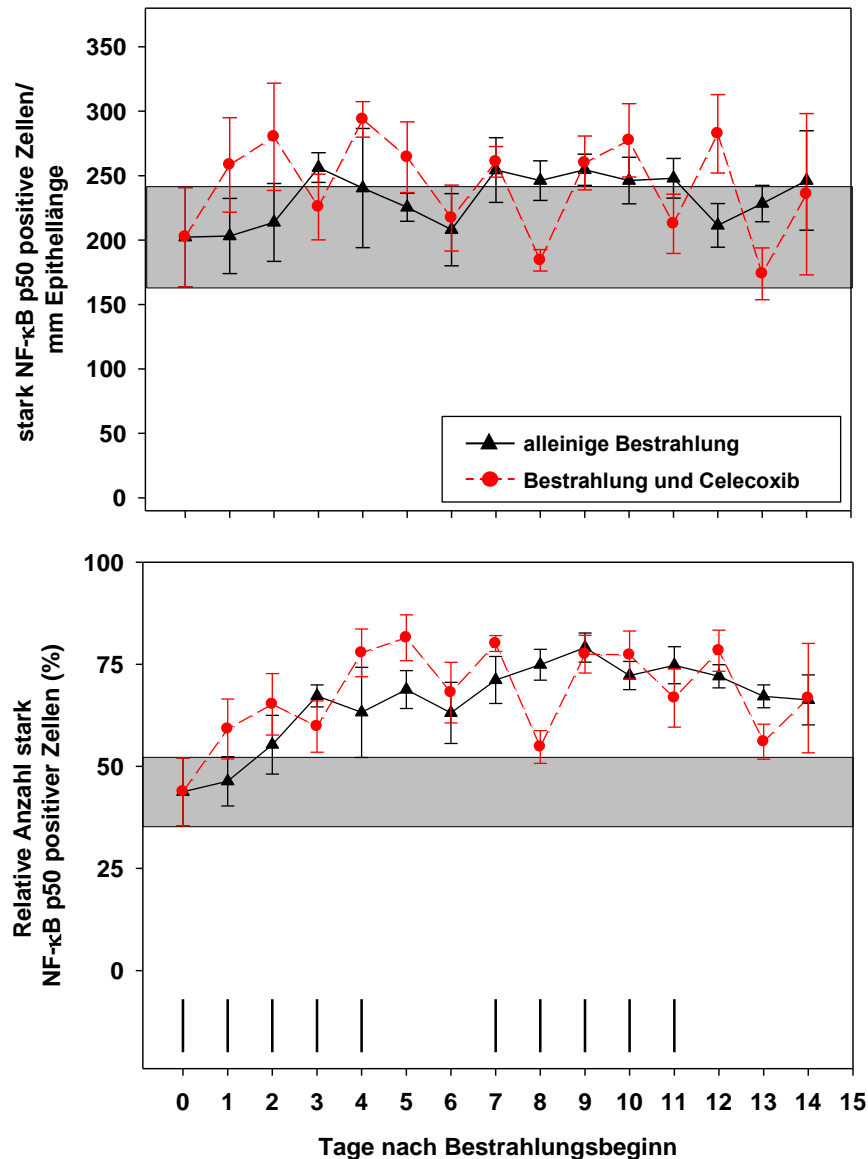


Abb. 23: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen stark NF-κB p50-positiver Zellen des Gesamtepithels als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen \pm Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) \pm SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

In den ersten drei Tagen nach Bestrahlungsbeginn steigt die Anzahl stark NF-κB p50-positiv gefärbter Zellen im Gesamtepithel von 202 ± 39 Zellen/mm auf 256 ± 12 Zellen/mm an, gefolgt von einem Abfall an den darauffolgenden Tagen. Am 6. Beobachtungstag erreicht diese Zellpopulation 208 ± 28 Zellen/mm und bleibt an den Versuchstagen 7-11 mit durchschnittlich 250 Zellen/mm Epithellänge nahezu konstant. Es folgt eine erneute Reduktion der stark NF-κB p50 exprimierenden Zellen an Tag 12, bevor am letzten Beobachtungstag 246 ± 39 Zellen/mm gezählt werden können. Bei fraktionierter Bestrahlung und zusätzlicher Celecoxibgabe liegt die Anzahl stark NF-κB p50-positiv gefärbter Zellen im Gesamtepithel an den Versuchstagen 1 und 2 mit 258 ± 12 Zellen/mm bzw. 280 ± 42 Zellen/mm sowie an den Versuchstagen 5 (264 ± 27 Zellen/mm) und 12 (283 ± 30 Zellen/mm) scheinbar oberhalb derer bei alleiniger

Bestrahlung, an den Tagen 8 und 13 mit 184 ± 8 Zellen/mm bzw. 174 ± 20 Zellen/mm vermutlich deutlich darunter.

Der relative Anteil stark NF-κB p50-positiv gefärbter Zellen steigt nach Bestrahlungsbeginn beginnend mit dem Kontrollwert in Höhe von 44 % kontinuierlich an. Das Maximum wird an Tag 9 mit 79 % erreicht. In den darauffolgenden Beobachtungstagen bleibt der Anteil dieser Zellpopulation nahezu konstant. Unter gleichzeitiger Celecoxibgabe verläuft der Anstieg des relativen Anteils stark NF-κB p50 exprimierender Zellen nach Bestrahlungsbeginn wahrscheinlich geringfügig steiler und erreicht mit 81 % an Tag 5 sein Maximum 4 Tage scheinbar früher als in Versuchsgruppe H0.

5.4.2.2 NF-κB p50-Expression in der Germinativschicht

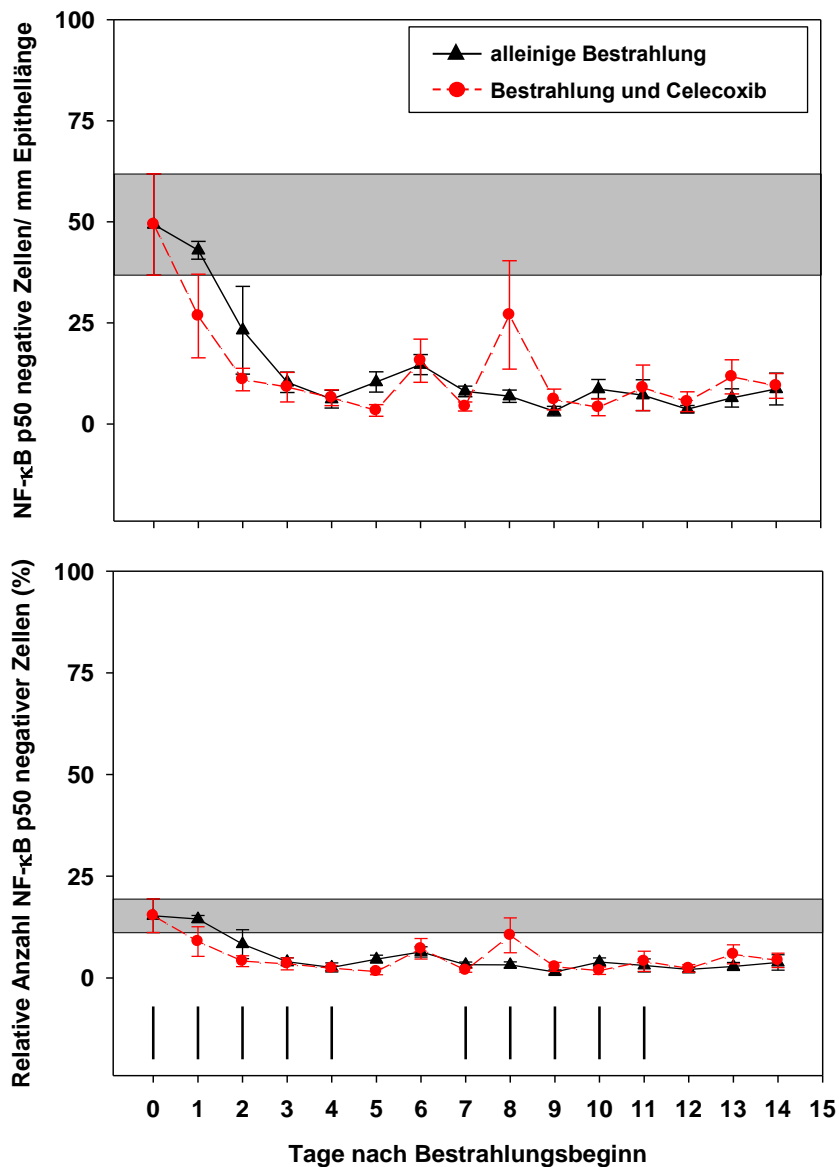


Abb. 24: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen NF-κB p50-negativer Zellen der Germinativschicht als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen ± Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) ± SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Zu Bestrahlungsbeginn exprimieren 49 ± 13 Zellen/mm in der Germinativschicht kein NF-κB p50. Im Versuch H0 nimmt die Anzahl bis zum 4. Bestrahlungstag auf 6 ± 2 Zellen/mm ab und bleibt in den darauffolgenden Untersuchungstagen unter geringen Schwankungen konstant. Bei zusätzlicher Celecoxibtherapie lässt sich kein wesentlicher Unterschied der absoluten Zahlen NF-κB p50-negativer Zellen vermuten.

Betrachtet man im Versuch H0 die relativen Zellzahlen in der Germinativschicht, die kein NF-κB p50 exprimieren, fällt deren Anteil bis zum 4. Beobachtungstag von ursprünglich 15 %

auf 3 % ab und verhält sich an den darauffolgenden Tagen nahezu konstant. Zwischen beiden Versuchsgruppen können scheinbar keine markanten Unterschiede festgestellt werden.

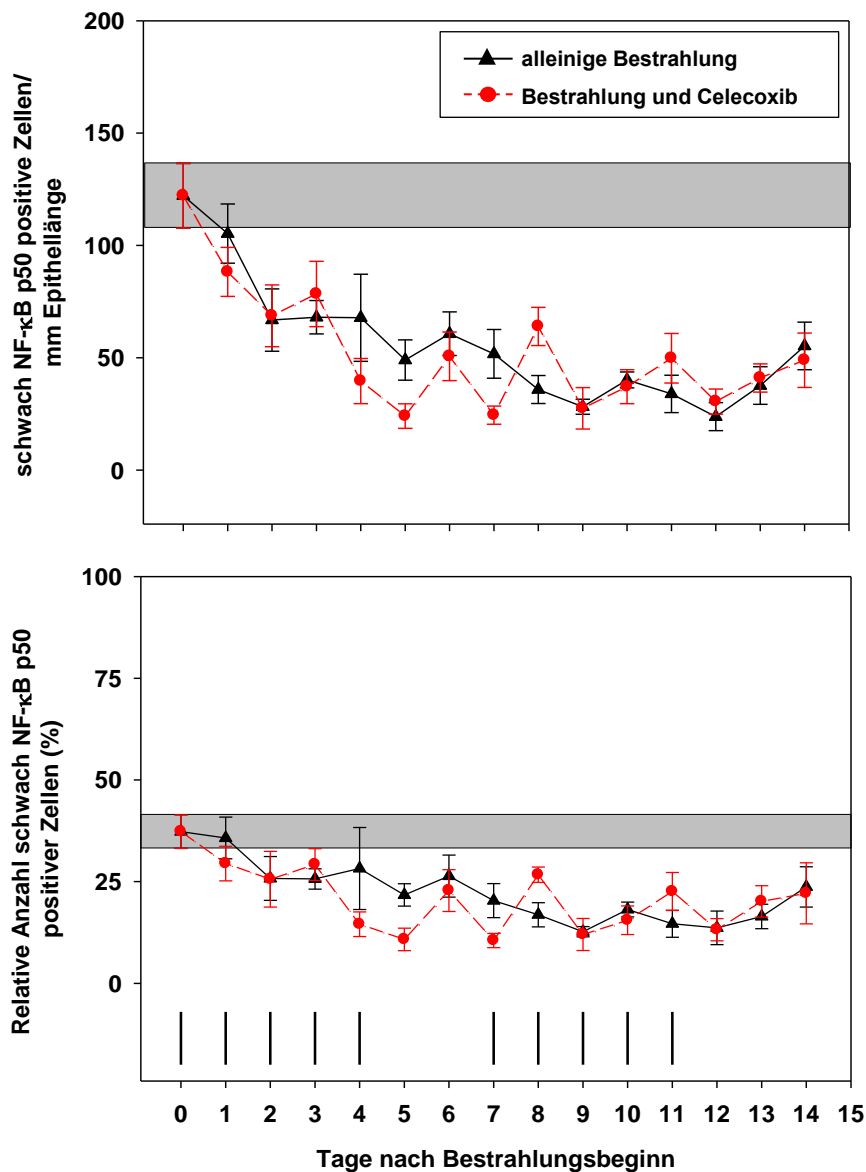


Abb. 25: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen schwach NF-κB p50-positiver Zellen der Germinativschicht als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen ± Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) ± SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Die Anzahl schwach NF-κB p50-positiver Zellen in der Germinativschicht fällt unter alleiniger fraktionierter Bestrahlung bis zum 9. Bestrahlungstag von ursprünglich 122 ± 14 auf 28 ± 3 Zellen/mm stetig ab und bleibt in den folgenden Beobachtungstagen annähernd konstant. Am 13. und 14. Tag nach Bestrahlungsbeginn nimmt die Anzahl schwach NF-κB p50 exprimierender Zellen zu und erreicht am letzten Versuchstag 55 ± 11 Zellen/mm.

Bei Bestrahlung mit zusätzlicher Celecoxibapplikation ist der Verlauf der Anzahl schwach NF-κB p50-positiver Zellen in der Germinativschicht vermutlich im Wesentlichen gleichsinnig zu den Werten im Versuch H0. An den Tagen 4-7 liegt die Anzahl dieser Zellpopulation anscheinend geringfügig unterhalb derer ohne Celecoxibgabe, am 8. Tag nach Bestrahlungsbeginn mit 64 ± 8 Zellen/mm scheinbar geringfügig darüber. Der relative Anteil schwach NF-κB p50-positiver Zellen nimmt nach Beginn der fraktionierten Bestrahlung von ursprünglich 37 % ab und erreicht an Tag 9 mit 13 % ihr Minimum. Bis zum letzten Beobachtungstag steigt der Anteil schwach NF-κB p50 exprimierender Zellen in der Germinativschicht wieder an und liegt an Tag 14 mit 24 % weiterhin unterhalb der Kontrolle. Bei zusätzlicher Celecoxibtherapie lassen die Werte insgesamt einen gleichsinnigen Verlauf vermuten.

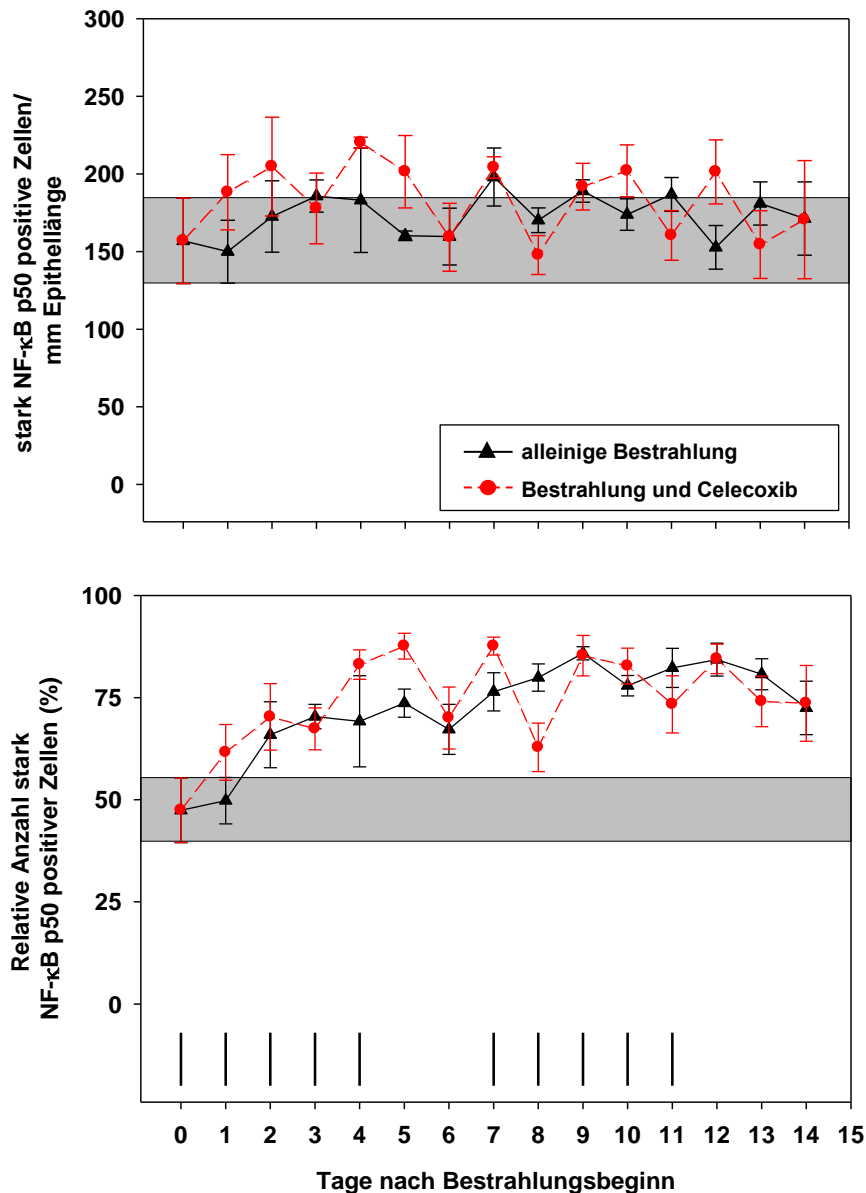


Abb. 26: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen stark NF-κB p50-positiver Zellen der Germinativschicht als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen ± Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) ± SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Bis zum 3. Tag nach Bestrahlungsbeginn steigt die Anzahl stark NF-κB p50-positiv gefärbter Zellen in der Germinativschicht von 157 ± 28 Zellen/mm im Normalepithel auf 186 ± 10 Zellen/mm an. An den Versuchstagen 5-6 liegt diese Zellpopulation nur geringfügig oberhalb der Kontrolle, bevor an Tag 7 mit 198 ± 19 Zellen/mm ihr Maximum erreicht wird. Im weiteren Beobachtungszeitraum liegt die Anzahl stark NF-κB p50 exprimierender Zellen innerhalb bzw. minimal oberhalb der Kontrolle. Bei fraktionierter Bestrahlung und zusätzlicher Celecoxibgabe sind in der ersten Versuchswoche anscheinend mehr Zellen stark NF-κB p50-positiv gefärbt. Am 4.Tag nach Bestrahlungsbeginn wird mit 220 ± 3 Zellen/mm Epithellänge ihr Maximum

vermutlich deutlich früher als im Versuch H0 erreicht. Ab dem 6. Versuchstag können scheinbar keine wesentlichen Unterschiede zwischen beiden Versuchsgruppen festgestellt werden. Die relative Anzahl stark NF- κ B p50-positiv gefärbter Zellen steigt von ursprünglich 47 % nach Bestrahlungsbeginn kontinuierlich an. Das Maximum wird am 9. Tag nach Bestrahlungsbeginn mit 86 % erreicht. In den darauffolgenden Beobachtungstagen bleibt der Anteil dieser Zellen der Germinativschicht nahezu konstant. Unter gleichzeitiger Celecoxibapplikation verläuft der Anstieg des relativen Anteils stark NF- κ B p50 exprimierender Zellen vermutlich geringfügig steiler und erreicht mit 88 % an Tag 5 sein Maximum 4 Tage früher als in Versuchsgruppe H0. Weitere Unterschiede können wahrscheinlich nicht festgestellt werden.

5.4.2.3 NF-κB p50-Expression in der funktionellen Schicht

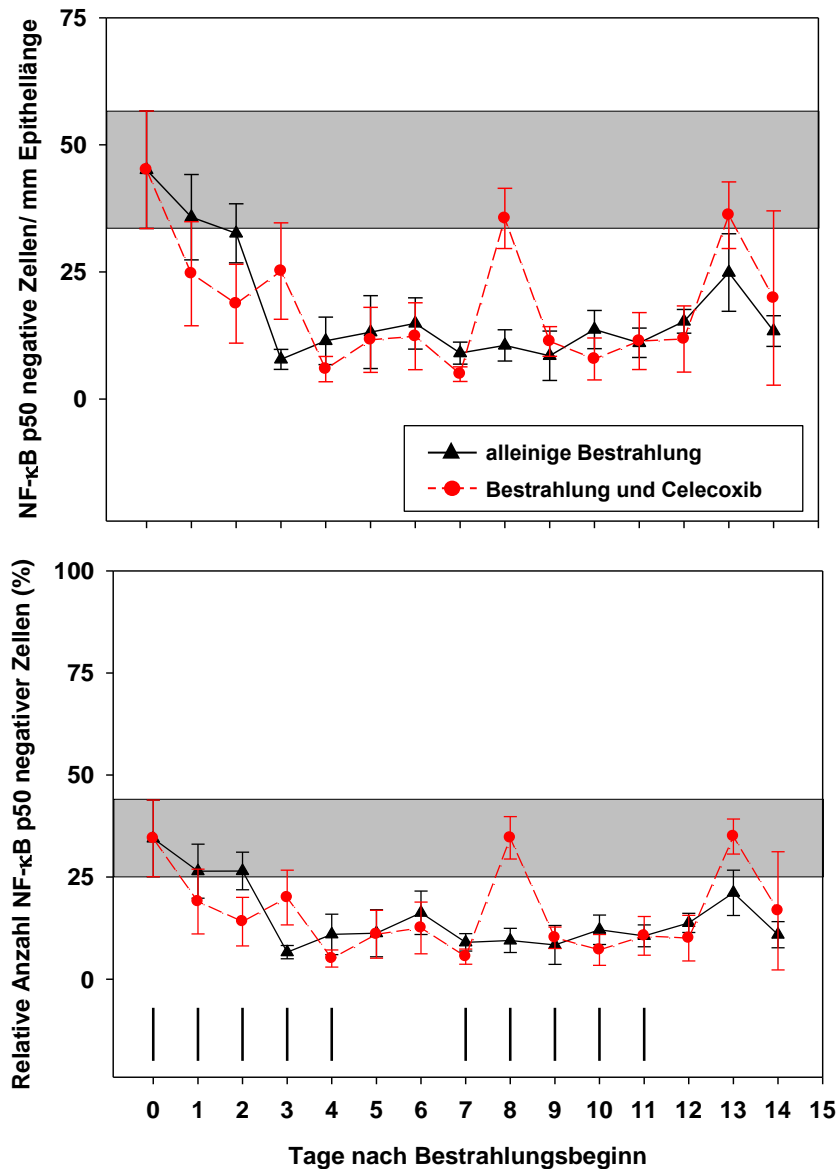


Abb. 27: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen NF-κB p50-negativer Zellen der funktionellen Schicht als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen ± Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) ± SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Zu Bestrahlungsbeginn exprimieren 45 ± 12 Zellen/mm in der funktionellen Schicht kein NF-κB p50. Im Versuch H0 nimmt die Anzahl bis zum 3. Bestrahlungstag auf 8 ± 2 Zellen/mm ab und hält sich in den darauffolgenden Untersuchungstagen unter geringen Schwankungen konstant. Bei zusätzlicher Celecoxibtherapie ist anscheinend kein Unterschied der absoluten Zahlen NF-κB p50-negativer Zellen zu erkennen.

Betrachtet man im Versuch H0 die relativen Zellzahlen in der funktionellen Schicht, die kein NF-κB p50 exprimieren, fällt deren Anteil bis zum 3. Beobachtungstag von ursprünglich 34 %

auf 7 % ab und bleibt an den darauffolgenden Tagen annähernd konstant. Zwischen beiden Versuchsgruppen können keine Unterschiede vermutet werden.

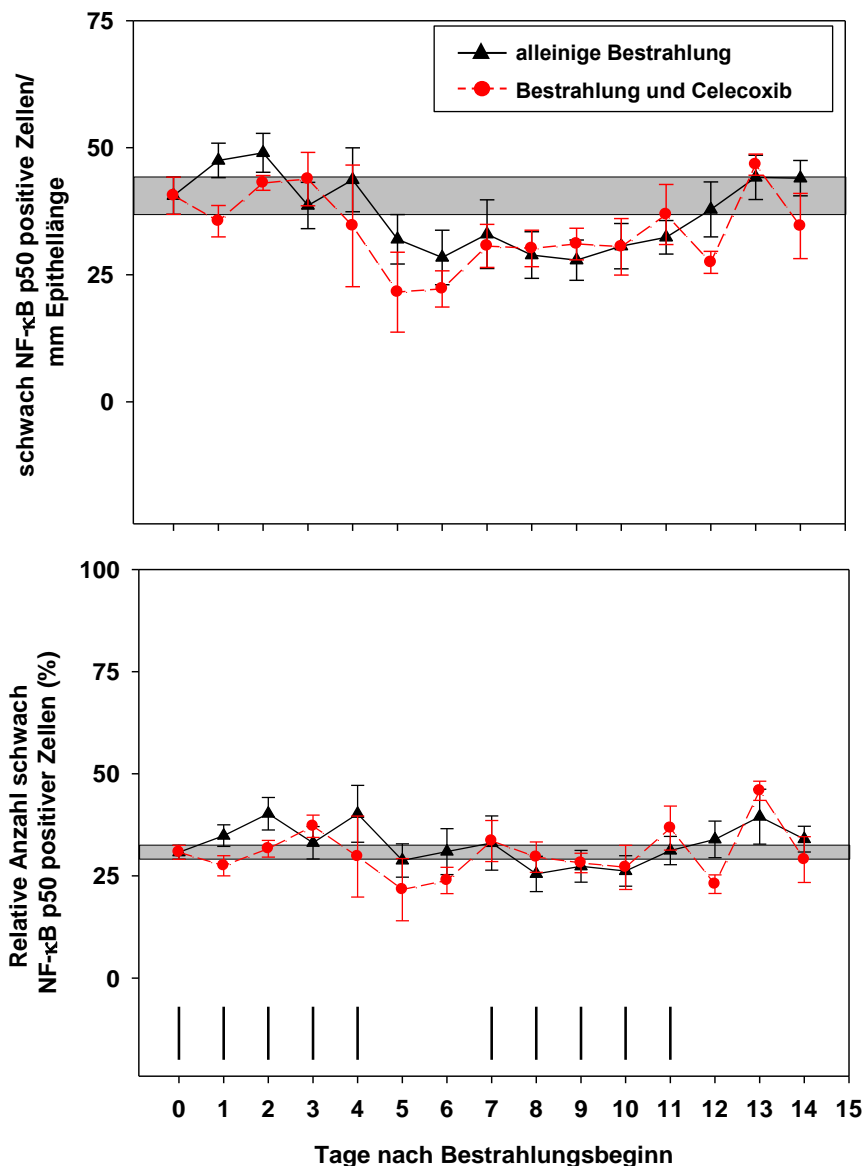


Abb. 28: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen schwach NF-κB p50-positiver Zellen der funktionellen Schicht als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen ± Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle (n=5) ± SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Die Anzahl schwach NF-κB p50-positiver Zellen in der funktionellen Schicht fällt unter alleiniger fraktionierter Bestrahlung bis zum 6. Bestrahlungstag von 41 ± 4 auf 28 ± 5 Zellen/mm ab und bleibt in den folgenden Beobachtungstagen annähernd konstant. Am 14. Tag nach Bestrahlungsbeginn erreicht die Anzahl schwach NF-κB p50 exprimierender Zellen einen Wert von 44 ± 3 Zellen/mm und liegt somit wieder innerhalb der Kontrolle. Zwischen den Versuchs-

gruppen H0 und H1 lassen sich in dieser Zellpopulation keine wesentlichen Unterschiede vermuten. Der relative Anteil schwach NF-κB p50-positiver Zellen liegt während des gesamten Beobachtungszeitraums im Bereich der Kontrolle ($31 \pm 2 \%$) bzw. nur geringfügig darüber oder darunter. Bei zusätzlicher Celecoxibtherapie zeigen die Werte anscheinend insgesamt einen gleichsinnigen Verlauf.

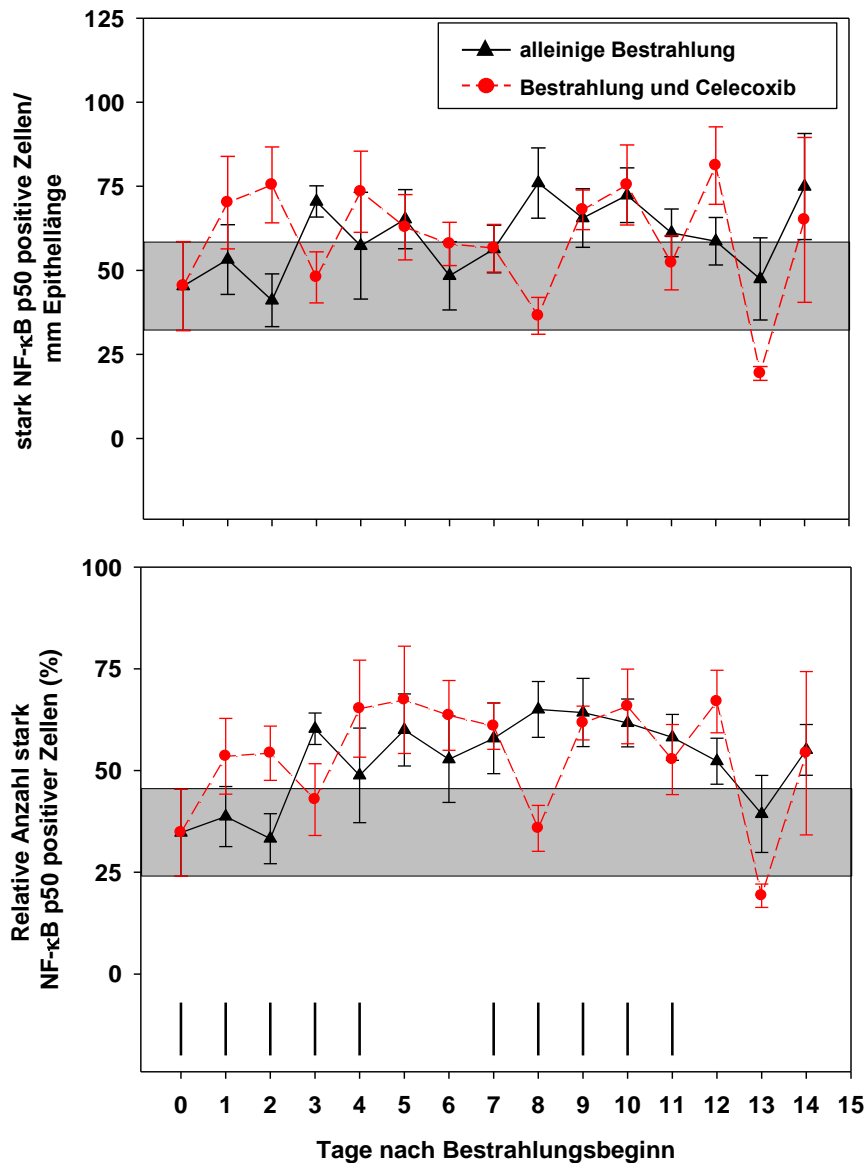


Abb. 29: Zellzahlen unter fraktionierter Bestrahlung mit 10x3 Gy ohne/mit Celecoxibtherapie

Die Abb. zeigt die Veränderungen der absoluten und relativen Zellzahlen stark NF-κB p50-positiver Zellen der funktionellen Schicht als täglicher Mittelwert von je 5 Mäusen \pm Standardfehler (SEM). Der graue Balken kennzeichnet die Werte in der unbehandelten Kontrolle ($n=5$) \pm SEM. Das Bestrahlungsprotokoll (3 Gy) ist oberhalb der Abszisse angegeben.

Am 3. Tag nach Bestrahlungsbeginn steigt die Anzahl stark NF-κB p50-positiv gefärbter Zellen in der funktionellen Schicht von 45 ± 13 Zellen/mm im Normalepithel auf 70 ± 5 Zellen/mm an,

gefolgt von einem Abfall auf bis zu 48 ± 10 Zellen/mm an Tag 6. Das Maximum von 76 ± 10 Zellen/mm wird am 8. Versuchstag erreicht, bevor die Werte anschließend erneut abfallen. Am letzten Versuchstag erreicht die Anzahl stark NF-κB p50 exprimierender Zellen 75 ± 16 Zellen/mm. Bei fraktionierter Bestrahlung und zusätzlicher Celecoxibgabe erfolgt bereits am 1. Tag nach Bestrahlung ein deutlicher Anstieg auf 70 ± 14 Zellen/mm. Auch am 2. Versuchstag liegt die Anzahl stark NF-κB p50-positiv gefärbter Zellen in der funktionellen Schicht mit 75 ± 11 Zellen/mm scheinbar deutlich oberhalb derer im Versuch H0. An den Beobachtungstagen 8 und 13 liegen die Werte mit 36 ± 6 bzw. 19 ± 2 Zellen/mm vermutlich unterhalb derer ohne Celecoxibapplikation.

Die relative Anzahl stark NF-κB p50-positiv gefärbter Zellen steigt von einem Ausgangswert in Höhe von 35 % am 3. Tag nach Bestrahlungsbeginn an. Nach geringen Schwankungen oberhalb der Kontrolle wird mit 65 % an Tag 8 das Maximum erreicht. In den darauffolgenden Beobachtungstagen nimmt der Anteil dieser Zellpopulation kontinuierlich ab und liegt am 13. Tag des Versuchs mit 39 % wieder innerhalb der Kontrolle. Unter gleichzeitiger Celecoxibgabe erfolgt der Anstieg des relativen Anteils stark NF-κB p50 exprimierender Zellen anscheinend schneller und früher als im Versuch H0 und liegt bereits am 1. Tag nach Bestrahlungsbeginn oberhalb der Kontrolle. Die Maxima werden mit 67 % an Tag 5 und 12 erreicht. An Tag 8 und 13 ist der Anteil dieser Zellpopulation in der funktionellen Schicht bei zusätzlicher Celecoxibverabreichung vermutlich deutlich geringer als bei alleiniger fraktionierter Bestrahlung.

6. Diskussion

6.1 Klinischer Hintergrund: Radiogene Mucositis enoralis

Die Inzidenz von oralen Tumoren wird bei Hund und Katze mit 70,4 bzw. 45,4 pro 100.000 Tieren angegeben (KESSLER 2012a). Krebserkrankungen zählen bei diesen Tieren nach chronischen Erkrankungen zu den häufigsten Todesursachen (GLÖWING 2013, LACHERETZ et al. 2002). Beim Menschen stehen Neoplasien nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen an zweiter Stelle der Todesursachen, bei 40-60-jährigen Frauen sogar an erster Stelle (ACHTERBERG et al. 2006, KARSTENS et al. 2010, Statistisches Bundesamt Wiesbaden 2013). In Deutschland erkranken jährlich ca. 20.000 Menschen an Kopf-Hals-Tumoren, wobei Männer deutlich häufiger betroffen sind als Frauen (Deutsche Krebshilfe e.V. 2009, Kopf-Hals-Tumorstiftung 2015).

In der Humanmedizin unterziehen sich mehr als 50 % der Krebspatienten im Laufe ihrer Therapie einer Bestrahlung (KARSTENS et al. 2010). Auch in der Veterinärmedizin stellt die Strahlentherapie neben der Chirurgie und Chemotherapie eine sehr effektive und zunehmend vom Besitzer geforderte Behandlungsoption von Malignomen dar.

Bei jeder effektiven kurativen Radiotherapie muss gesundes Gewebe (Ein- und Austrittskanäle der Strahlung, gesunde Anteile innerhalb des Tumors und in unmittelbarer Umgebung des Tumors) mit signifikanten Dosen exponiert werden, sodass stets eine gewisse Rate an (schweren) Nebenwirkungen im Normalgewebe akzeptiert wird (DÖRR 2005, 2006b, 2009, 2010).

Die Mucositis enoralis ist die bedeutendste und meist dosislimitierende frühe Strahlenfolge einer Radiotherapie von oropharyngealen Tumoren (BESE et al. 2007, BONOMI und BATT 2015, DÖRR 2005, 2009, DÖRR et al. 2005a, DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, HAAGEN et al. 2009, KEEFE et al. 2007). Bei bis zu 20 % der Betroffenen ist eine Unterbrechung der Behandlung notwendig, um eine Heilung der Schleimhaut zu ermöglichen (DÖRR et al. 2009, GRÖTZ et al. 2003, RUSSO et al. 2008). Jede Therapiepause senkt jedoch gleichzeitig die Heilungschance der Krebserkrankung im Kopf-Hals-Bereich (DÖRR et al. 2007, DÖRR et al. 2008, DÖRR et al. 2009, EPSTEIN und KLASSER 2006, HERRMANN et al. 2006). Weiterhin ist die Mucositis enoralis assoziiert mit einer verschlechterten Lebensqualität, hohen Behandlungskosten und einem erhöhten Risiko für sekundäre Infektionen und späte Nebenwirkungen (DÖRR 2006b, DÖRR und HENDRY 2001, HERRMANN et al. 2006).

Bisher konnte trotz umfangreicher experimenteller und klinischer Untersuchungen keine spezifische Strategie zur Behandlung der radiogenen Mucositis enoralis Einzug in die klinische Routine finden (BONOMI und BATT 2015, DÖRR et al. 2009, KEEFE et al. 2007, LALLA et al. 2006, ROSENTHAL und TROTTI 2009, TREISTER und SONIS 2007, VIET et al. 2014). Die epitheliale Schleimhautreaktion wird von Gefäß- und entzündlichen Gewebsreaktionen begleitet, zu denen auch die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine wie z.B. IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF- α , COX-2 und Prostaglandinen zählt (BONAN et al. 2007, DÖRR et al. 2006,

DÖRR 2006b, 2009, GULSHAN et al. 2008, HAAGEN et al. 2009, LOGAN et al. 2007b, MAENG et al. 2006, SCARDINA et al. 2010, SONIS 2007, TREISTER und SONIS 2007, ZHANG und MOSSER 2008).

Celecoxib zählt zu den NSAIDs, welche über die Hemmung der Cyclooxygenase die Ausschüttung von Prostaglandinen und Thromboxanen verhindert und auf diesem Wege entzündungshemmend und schmerzlindernd wirkt (BERGH und BUDSBERG 2005, KIETZMANN et al. 2007). Weiterhin gilt der Einsatz als vielversprechend in der Behandlung von Tumoren, die vermehrt COX-2 exprimieren (BERGH und BUDSBERG 2005).

In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, ob die Gabe von Celecoxib die epitheliale Schleimhautreaktion beeinflusst und zu einer veränderten Expression der Transkriptionsfaktorkomponenten c-Jun und NF- κ B p50 führt.

6.2 Zellzahlen

Die durchschnittliche Zellzahl beträgt in der vorliegenden Arbeit im unbehandelten Epithel 402 ± 11 Zellen/mm. Davon befinden sich 70 % in der Germinativschicht (281 ± 8 Zellen/mm Epithellänge). DÖRR (1997a) beschreibt im Epithel der murinen Zungenunterseite von C3H/Neu-Mäusen durchschnittlich 400-430 Zellen/mm, von denen 300-320 Zellen/mm zur Germinativschicht gehören. In den Untersuchungen des gleichen Mäusestammes von FEHRMANN (2009) werden durchschnittlich 578 ± 5 Zellen/mm im gesamten Epithel gezählt, davon 75 % in der Germinativschicht. Vergleichbare Verteilungen der Gesamtzellzahl zeigen auch die Versuche von KLAMMT (2005), DÖRR et al. (1994b), DÖRR und KUMMERMEHR (1991), SIEGEMUND (2010) und DÖRR et al. (1996), sodass alle Untersuchungen inklusive der vorliegenden Arbeit darin übereinstimmen, dass sich mehr als zwei Drittel der Epithelzellen in der Germinativschicht befinden.

Die Differenzen in der absoluten Zellzahl können möglicherweise aufgrund von Unterschieden in den Haltungsbedingungen und der Futterzusammensetzung beruhen, die zu einer veränderten mechanischen Beanspruchung der Mundschleimhaut und demzufolge zu unterschiedlichen morphologischen Eigenschaften beim gleichen Mäusestamm führen. Außerdem ist es möglich, dass verschiedene Untersucher ein histologisches Präparat unterschiedlich bewerten. Um diese subjektive Komponente zu minimieren, wurden alle Auswertungen für die vorliegende Arbeit ausschließlich von der Autorin durchgeführt.

Innerhalb der ersten Bestrahlungswoche mit 3 Gy pro Fraktion (Tag 0-4) reduziert sich in Folge der strahlenbedingten Proliferationshemmung bei fortbestehendem Zellverlust die Zellzahl bis zum 5. Tag auf 68 % des Ausgangsniveaus. Zu Beginn der zweiten Woche unter fraktionierter Bestrahlung sinkt die Zellzahl erneut, bleibt dann allerdings unter geringen Schwankungen (60-68 %) konstant. Verantwortlich für die Kompensation des Zellverlustes ist die strahleninduzierte regenerative Repopulierung (siehe 2.7.3).

Die Zellzahl der zusätzlich mit Celecoxib behandelten Tiere sinkt bis zum 10. Tag und bleibt dann bis zum 12. Tag unter geringen Schwankungen konstant, bevor an den letzten beiden Beobachtungstagen ein erneuter Anstieg erfolgt. Vergleichend betrachtet liegen die Zellzahlen vom 6.-12. Tag vermutlich unter denjenigen bei alleiniger Bestrahlung. Somit ist festzustel-

len, dass Celecoxib scheinbar die Proliferation der Zellen insbesondere in der Germinativschicht verringert oder aber die Migration in die funktionelle Schicht fördert. Daraus resultiert, dass die Zellabnahme in der Germinativschicht deutlicher ausfällt als in der funktionellen Schicht.

6.3 Epitheldicke

Die durchschnittliche Epitheldicke im unbehandelten Epithel liegt in der vorliegenden Arbeit bei $68 \pm 3 \mu\text{m}$. Davon macht die funktionelle Schicht mit $38 \pm 4 \mu\text{m}$ (56 %) den größten Anteil aus, während Germinativ- und Keratinschicht je $15 \pm 1 \mu\text{m}$ betragen. Vergleichbare Verteilungen zeigen auch die Versuche von FEHRMANN (2009), SIEGEMUND (2010) und DÖRR (1997a). Die Epitheldicke erreicht am 3. Tag mit $77 \pm 2 \mu\text{m}$ (113 %) ihr Maximum, bevor die Werte ab dem 6. Tag bis zum Ende des Beobachtungszeitraums im Kontrollbereich bzw. geringfügig darunter liegen. Die Zunahme der Gesamtepitheldicke in der ersten Bestrahlungswoche wird im Wesentlichen durch den Anstieg der Dicke in der funktionellen Schicht bestimmt, während die Werte der Germinativ- und Keratinschicht im gesamten Versuch im Kontrollbereich oder geringfügig darunter liegen. Da die Zellzahlen in der ersten Behandlungswoche einen Rückgang zeigen, muss die Zunahme der Epitheldicke auf einer Zunahme des Zellvolumens beruhen. Eine Zunahme des Interzellularraumes wird histologisch nicht beobachtet.

Die Epitheldicke der zusätzlich mit Celecoxib behandelten Tiere erreicht ihr Maximum scheinbar einen Tag später und fällt mit $88 \pm 6 \mu\text{m}$ (129 %) vermutlich stärker aus als bei alleiniger Bestrahlung. Ab dem 6. Tag bis zum Ende des Beobachtungszeitraums nimmt die Dicke subnormale bzw. normale Werte an und gleicht somit vermutlich der Versuchsgruppe ohne Celecoxibtherapie. Dies lässt vermuten, dass Celecoxib die Volumenzunahme der Zellen intensiviert, was vor allem die funktionelle Schicht betrifft.

6.4 Expression von c-Jun

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass c-Jun im Epithel zu etwa gleichen Anteilen in der funktionellen und Germinativschicht konstitutiv exprimiert wird, wobei die funktionelle Schicht eine größere Färbeintensität aufweist. EGER (2009) zeigte in ihren Versuchen gleichfalls eine stärkere Färbeintensität in der Funktionsschicht der murinen Zungenschleimhaut.

Unter fraktionierter Bestrahlung zeigt sich in beiden Schichten eine deutliche Verschiebung der relativen Anteile zugunsten der stark c-Jun-positiven Zellen. Die Zellen, welche kein oder schwach c-Jun exprimieren nehmen im Laufe der fraktionierten Bestrahlung hingegen deutlich ab. Die Färbeintensität der epithelialen c-Jun-Expression steigt unmittelbar nach Bestrahlungsbeginn bis zum 5. Tag an und liegt anschließend während des gesamten Beobachtungszeitraums über dem Kontrollbereich. EGER (2009) berichtete gleichfalls von einer erhöhten Färbeintensität im murinen Zungenepithel nach Einzeitbestrahlung mit 15 Gy. KIM et al. (2008) zeigten eine Aktivierung der c-Jun-Expression bei menschlichen Kopf-Hals-Karzinomzellen in Folge einer Radiotherapie. Die Zunahme der Färbeintensität im Gesamtepithel wird insbesondere durch die Erhöhung der Färbeintensität in der Germinativ-

schicht bestimmt, während die der funktionellen Schicht nur mäßig ansteigt. Während der fraktionierten Bestrahlung und zusätzlicher Gabe von Celecoxib liegt der Anteil schwach c-Jun-positiver Zellen in der Germinativschicht und dem Gesamtepithel während des gesamten Beobachtungszeitraums scheinbar geringfügig oberhalb des Versuchs bei alleiniger Bestrahlung. Weitere Unterschiede lassen sich zwischen den beiden Versuchsgruppen jedoch nicht vermuten. Celecoxib hat in den vorliegenden Untersuchungen somit keinen relevanten Effekt auf die epitheliale Färbeintensität von c-Jun.

6.5 Expression von NF- κ B p50

Im unbehandelten Zungenepithel der Maus sind 79 % der Zellen NF- κ B p50-positiv. Dabei wird NF- κ B p50 in der Germinativschicht stärker exprimiert. HACKBARTH (2010) zeigte dagegen in ihren Versuchen ein anderes Expressionsmuster in der murinen Mundschleimhaut: 51 % des Gesamtepithels waren NF- κ B-positiv und die Expression in der Funktionsschicht fiel um 16 % stärker als in der Germinativschicht aus.

Unter der fraktionierten Bestrahlung nimmt die Färbeintensität der epithelialen NF- κ B-Expression unmittelbar nach Bestrahlungsbeginn bis zum 3. Tag zu und liegt während des gesamten weiteren Beobachtungszeitraums mit nur geringen Abweichungen über der Kontrolle. In der funktionellen Schicht steigt die Intensität im Vergleich zur Germinativschicht zeitlich verzögert und geringgradig stärker an. HACKBARTH (2010) zeigte hingegen in ihren Versuchen einen Abfall der NF- κ B-Expression unter fraktionierter Bestrahlung im gesamten murinen Epithel.

Celecoxib hat in den vorliegenden Untersuchungen keinen relevanten Effekt auf die epitheliale Expression von NF- κ B p50. Einzige Ausnahmen stellen die deutlich geringeren Färbeintensitäten am 8. und 13. Beobachtungstag bei fraktionierter Bestrahlung und zusätzlicher Gabe von Celecoxib dar, die in der funktionellen Schicht sogar den Kontrollbereich erreichen, während sie in der Germinativschicht geringgradig darüber liegen. Dies deutet darauf hin, dass Celecoxib keinen oder nur einen minimal hemmenden Einfluss auf die NF- κ B-p50-Expression hat. Aufgrund der Differenzen zwischen den eigenen Untersuchungsergebnissen und denen von HACKBARTH (2010), sollten zur abschließenden Beurteilung weitere Untersuchungen zur epithelialen NF- κ B p50-Expression unter fraktionierter Bestrahlung durchgeführt werden.

7. Zusammenfassung

Anne Haase

Strahleninduzierte Veränderungen der Expression der Transkriptionsfaktoren c-Jun und NF- κ B p50 in der Zungenschleimhaut der Maus - Einfluss der selektiven Hemmung der Cyclooxygenase COX-2 mittels Celecoxib

Klinik für Kleintiere der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig und Universitätsklinik für Strahlentherapie der Medizinischen Universität Wien

Eingereicht im Juli 2017

96 Seiten, 29 Abbildungen, 28 Tabellen, 264 Literaturangaben, 1 Anhang

Schlüsselwörter: fraktionierte Bestrahlung, Mucositis enoralis, NF- κ B p50, c-Jun, COX-2, Celecoxib

Einleitung: Die Mucositis enoralis stellt die bedeutendste und schwerwiegendste frühe Nebenwirkung bei der Strahlentherapie fortgeschrittener Kopf-Hals-Tumoren dar. Sie führt häufig zu einer Unterbrechung der Behandlung, mit der Folge einer reduzierten Tumorheilungschance. Des Weiteren wirkt sie sich nachteilig auf die Lebensqualität aus, erhöht das Risiko später Nebenwirkungen und Infektionen und stellt einen erheblichen Kostenfaktor dar. Trotz umfangreicher experimenteller und klinischer Untersuchungen wurde bisher keine allgemein anerkannte Strategie zur Prophylaxe oder Therapie der Mucositis enoralis klinisch etabliert. Die Blockade der Cyclooxygenase-2 (COX-2), welche in einer Reihe von Tumoren überexprimiert wird, wird in der Kombination mit einer Strahlentherapie diskutiert. Außerdem kommen COX-2-Inhibitoren als entzündungshemmende Medikamente therapiebegleitend zum Einsatz. C-Jun und NF- κ B p50 sind Transkriptionsfaktoren, die möglicherweise in der Pathogenese der radiogenen Mukositis eine wichtige Rolle spielen.

Ziel der Untersuchungen: Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Wirkung von Celecoxib, einem selektiven COX-2-Inhibitor, auf die Strahlenreaktion der oralen Mukosa (Zellzahl, Epitheldicke) und die epitheliale Expression von c-Jun und NF- κ B p50 im etablierten Tiermodell der Schleimhaut der Zungenunterseite der Maus zu untersuchen. So soll festgestellt werden, ob eine Interaktion zwischen den begleitenden Entzündungsreaktionen und der eigentlichen epithelialen Strahlenreaktion besteht.

Material und Methoden: In vorangegangenen Untersuchungen wurden die Schnauzen von Mäusen des Stammes C3H/Neu mit 5x3 Gy/Woche über 2 Wochen (Tag 0-4, 7-14) bestrahlt (200 kV Röntgenstrahlung). In einer weiteren Versuchsgruppe erhielten die Tiere täglich an den Tagen 0 bis 13 25 mg/kg/Tag Celecoxib oral per Schlundsonde. Im vierzehntägigen Untersuchungszeitraum wurden täglich jeweils 5 Mäuse je Versuchsgruppe getötet, deren Zungen entnommen und fixiert. In diesem Zustand wurde das Material von der Autorin dieser Arbeit übernommen. Mit Hilfe eines Zählrasters wurden in den vorliegenden Untersuchungen die Zellzahl, die Epitheldicke und die Expression von c-Jun und NF- κ B p50 im Epithel der Zungenunterseite der unbehandelten Kontrolle (n = 5), während alleiniger Bestrahlung, sowie

nach Bestrahlung und Gabe von Celecoxib manuell erfasst. Aufgrund der geringen Tierzahlen pro Untersuchungszeitpunkt ($n = 5$) und Versuchsgruppe wurde auf eingehende statistische Analysen verzichtet. Die vorliegende Arbeit beschränkt sich auf eine beschreibende Darstellung des Verlaufs der Einzelparameter über den Gesamtzeitraum.

Ergebnisse: Das unbehandelte Epithel besteht aus 402 ± 11 Zellen, wobei 281 ± 8 Zellen der Germinativ- und 121 ± 4 Zellen der funktionellen Schicht angehören. Die Dicke des Gesamtepithels beträgt $68 \pm 3 \mu\text{m}$. Davon nehmen Germinativ- und Keratinschicht je $15 \pm 1 \mu\text{m}$ und die funktionelle Schicht $38 \pm 4 \mu\text{m}$ ein. Im Kontrollepithel wird c-Jun von 81 % der Zellen der funktionellen und von 80 % der Zellen der Germinativschicht exprimiert, wobei die funktionelle Schicht scheinbar eine größere Färbeintensität aufweist. NF- κ B p50 wird von 79 % der Epithelzellen exprimiert, wobei eine stärkere Expression in der Germinativschicht zu beobachten ist. Bei alleiniger fraktionierter Bestrahlung verringert sich die Zellzahl innerhalb der ersten Woche auf 68 % des Kontrollwertes und bleibt anschließend trotz weiterer Bestrahlung weitestgehend konstant. Der größere Anteil an Zellen geht dabei in der funktionellen Schicht verloren. Die Epitheldicke nimmt in der ersten Bestrahlungswoche bis auf 113 % zu und liegt in der folgenden Woche im normalen bis subnormalen Bereich.

Die epitheliale c-Jun-Expression nimmt unmittelbar nach Bestrahlungsbeginn zu und liegt anschließend während des gesamten Beobachtungszeitraums über dem Kontrollbereich. Während der gesamten Bestrahlung liegt die Färbeintensität der funktionellen Schicht weiterhin über derer der Germinativschicht. Auch bei NF- κ B p50 nimmt die Färbeintensität in der ersten Bestrahlungswoche zu und bleibt anschließend erhöht. Der Anteil NF- κ B p50 exprimierender Zellen ist in der Germinativschicht scheinbar größer als in der funktionellen Schicht. Unter zusätzlicher Celecoxibgabe liegen die Zellzahlen vom 6.-12. Tag des Beobachtungszeitraums vermutlich unterhalb derjenigen bei alleiniger Bestrahlung. Dieser Effekt ist besonders innerhalb der Germinativschicht sichtbar. Der Anstieg der Epitheldicke in der ersten Bestrahlungswoche fällt bei zusätzlicher Celecoxibtherapie stärker aus. Im weiteren Verlauf sind kaum Differenzen zu verzeichnen. Die epitheliale Färbeintensität von c-Jun unterscheidet sich kaum von den alleinig bestrahlten Tieren. Bei NF- κ B p50 ist dies mit Ausnahme einer scheinbar geringeren Expressionsintensität am 8. und 13. Beobachtungstag ebenso.

Schlussfolgerungen: Bei der frühen Strahlenreaktion der Mundschleimhaut werden c-Jun und NF- κ B p50 verändert exprimiert. Celecoxib reduziert im Vergleich zur alleinigen Bestrahlung die Zellzahl und verstärkt die Zunahme der Epitheldicke. Es hat keinen Einfluss auf die Expression von c-Jun und NF- κ B p50. Somit ist die Regulation der Aktivität von c-Jun und NF- κ B p50 unabhängig von der Aktivität von COX-2 erfolgt.

8. Summary

Anne Haase

Radiation-induced modification of the expression of the transcription factors c-Jun and NF- κ B p50 in the tongue mucosa of the mouse - Influence of the selective inhibition of the cyclooxygenase COX-2 with celecoxib

Department of Small Animal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig and Department of Radiation Oncology, Medical University of Vienna

Submitted in July 2017

96 pages, 29 figures, 28 tables, 264 references, 1 appendix

keywords: fractionated-radiation therapy, oral mucositis, NF- κ B p50, c-Jun, COX-2, celecoxib

Introduction: Oral mucositis represents the most important and most severe early side effect of radiotherapy of advanced head and neck tumours. It often requires interruptions of the treatment, thus resulting in a reduced tumor cure rate. Furthermore due to various symptoms, it significantly impacts on the patients' quality of life, increases the risk of late adverse reactions and infections and represents a significant cost factor. Despite extensive experimental and clinical studies, so far no generally accepted strategy for the prevention or treatment of oral mucositis has been generally accepted in clinical practice. The inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2), which is overexpressed in a number of tumours, is discussed for the combination with radiotherapy. In addition, "non-steroidal anti-inflammatory drugs" (NSAIDs), which inhibit COX-2, are used for analgesia and anti-inflammation during tumour therapy. C-Jun and NF- κ B p50 are transcription factors that potentially play an important role in the pathogenesis of radiation-induced mucositis.

Intention of the investigation: The aim of the present study is to characterize the effect of celecoxib, a selective COX-2 inhibitor, on the radiation response of the oral mucosa (epithelial cell numbers, thickness) and the epithelial expression of c-Jun and NF- κ B p50 in the established animal model of the lower tongue surface. The interaction between the inflammatory response and the epithelial reaction is to be defined.

Materials and methods: In previous radiation response of investigations of the oral mucosa the snouts of mice of the strain C3H/Neu were irradiated with 5x3 Gy/week for 2 weeks (days 0-4, 7-11) with 200 kV X-rays. In an additional experiment, the animals received 25 mg/kg/day of celecoxib by oral gavage on days 0 to 13. Over days 0 to 14, 5 mice per experimental group were sacrificed per day, their tongues excised, prepared and fixed for histological examinations. These biological samples were provided to the author of this thesis.

In the present study, the number of cells, the epithelial thickness and the expression of c-Jun and NF- κ B p50 in the epithelium of the lower tongue surface of untreated control animals (n = 5), during irradiation alone, and with additional administration of celecoxib were analyzed with the help of a defined counting pattern. By virtue of the small amount of animals in each experimental group (n = 5) no detailed statistical analyzes were done. The present study is determined to describe the parameter variations over the observation period.

Results: The untreated epithelium contains 402 ± 11 cells/mm, with 281 ± 8 cells/mm belonging to the germinal and 121 ± 4 cells/mm to the functional layer. The epithelial thickness amounts 68 ± 3 μm . Thereof the germinal and keratin layer each take 15 ± 1 μm and the functional layer with 38 ± 4 μm takes the biggest amount. C-Jun is expressed in 81 % of the cells in the functional and 80 % of the cells of the germinal layer, with a more pronounced staining intensity in the further. NF- κ B p50 is expressed in 79 % of the epithelial cells, with a stronger expression in the germinal layer.

Fractionated irradiation alone reduces cell counts within the first week to 68 %; subsequently they remain constant at this reduced level. Cell loss is observed predominantly in the functional layer. The epithelial thickness increases in the first irradiation week to 113 % and subsequently remains at normal to subnormal values.

The epithelial c-Jun expression immediately increases after the start of irradiation and then remains at supranormal values throughout the observation period. Throughout the irradiation, the staining intensity of the functional layer seem to be above that of the germinal layer. Also for NF- κ B p50, the staining intensity increases in the first irradiation week and then remains above the control. The fraction of NF- κ B p50 expressing cells during fractionated irradiation as well as in the untreated epithelium in the germinal layer may be higher than in the functional layer.

With additional Celecoxib administration the numbers of cells on days 6-12 appear below those after irradiation alone. This refers particularly to the germinal layer. The increase in epithelial thickness in the first treatment week seems more pronounced with additional Celecoxib treatment, but subsequently remains at a similar level. The epithelial staining intensity of c-Jun is presumably similar to that after irradiation alone. For NF- κ B p50, the same observation is made, except for a lower expression intensity on days 8 and 13.

Conclusions: During the development of the early radiation response of the oral mucosa changes in the expression of c-Jun and NF- κ B p50 are induced. Celecoxib reduces the number of cells and enhances the expansion of the epithelial thickness. It, however, does not affect expression of c-Jun and NF- κ B p50. Thus, the regulation of the activities of c-Jun and NF- κ B p50 are independent of the activity of COX-2.

9. Literaturverzeichnis

- Abe Y, Urano M. Fraction size-dependent acute skin reaction of mice after multiple twice-a-day doses. *Int J Radiat Onc Biol Phys.* 1990;18:359-64.
- Achterberg P, Bergmann E, Bertz J, Böhm K, Bronnecke R, Burger M. Gesundheitsberichterstattung des Bundes-Gesundheit in Deutschland. Hrsg. Statistisches Bundesamt, Robert Koch-Institut. Berlin; 2006
- Ainsbury EA, Bouffler SD, Dörr W, Graw J, Muirhead CR, Edwards AA, Cooper J. Radiation cataractogenesis: a review of recent studies. *Radiat Res.* 2009;172:1-9.
- Alvarez E, Fey EG Valax P, Yim Z, Peterson JD, Mesri M. Preclinical Characterization of CG53135 (FGF-20) in Radiation and Concomitant Chemotherapy/Radiation-induced Oral Mucositis. *Clin Cancer Res.* 2003;9:3454-61.
- Ang KK, Xu FX, Landuyt W, Van der Schueren E. The kinetics and capacity of repair of sublethal damage in mouse lip mucosa during fractionated irradiations. *Int J Radiat Onc Biol Phys.* 1985;11:1977-83.
- Argiris A, Karamouzis MV, Raben D, Ferris RL. Head and neck cancer. *Lancet.* 2008;371:1695-709.
- Baharvand M, Shoaleh Saadi N, Barakian R, Moghaddam EJ. Taste alteration and impact on quality of life after head and neck radiotherapy. *J Oral Pathol Med.* 2013;4:106-12.
- Bateman KE, Catton P, Pennock PW, Kruth SA. 0-7-21 Radiation Therapy for the Palliation of Advanced Cancer in Dogs. *J Vet Int Med.* 1994a;8:394-9.
- Bateman KE, Catton PA, Pennock P, Kruth S. 0-7-21 Radiation Therapy for the Treatment of Canine Oral Melanoma. *J Vet Int Med.* 1994b;8:267-72.
- Bath SS, Sreeraman R, Dienes E, Beckett LA, Daly ME, Cui J et al. Clinical-dosimetric relationship between lacrimal gland dose and ocular toxicity after intensity-modulated radiotherapy for sinonasal tumours. *Brit J Rad.* 2013;86:1-7
- Bensadoun RJ, Nair RG. Efficacy of low-level laser therapy (LLLT) in oral mucositis: what have we learned from randomized studies and meta-analyses? *Photomed laser surg.* 2012;30:191-2.
- Bentzen SM, Dörr W, Gahbauer R, Howell RW, Joiner MC, Jones B et al. Bioeffect modeling and equieffective dose concepts in radiation oncology – Terminology, quantities and units. *Radiother Onc.* 2012;105:266-8.
- Bergh MS, Budsberg SC. The Coxib NSAIDs: Potential Clinical and Pharmacologic Importance in Veterinary Medicine. *J Vet Int Med.* 2005;19:633-43.
- Bergman PJ. Canine oral melanoma. *Clin Tech Small An P.* 2007;22:55-60.
- Bertazza L, Mocellin S. Tumor necrosis factor (TNF) biology and cell death. *Front Biosci.* 2008;13:2736-43.
- Bertone ER, Snyder LA, Moore AS. Environmental and Lifestyle Risk Factors for Oral Squamous Cell Carcinoma in Domestic Cats. *J Vet Int Med.* 2003;17:557-62.
- Bese NS, Hendry J, Jeremic B. Effects of Prolongation of Overall Treatment Time Due To Unplanned Interruptions During Radiotherapy of Different Tumor Sites and Practical Methods for Compensation. *Int J Radiat Onc Biol Phys.* 2007;68:654-61.
- Bhandare N, Jackson A, Eisbruch A, Pan CC, Flickinger JC, Antonelli P, Mendenhall WM. Radiation Therapy and Hearing Loss. *Int J Radiat Onc Biol Phys.* 2010;76:50-7.

- Biswas DK, Iglehart JD. Linkage between EGFR family receptors and nuclear factor kappaB (NF-κB) signaling in breast cancer. *J Cell Phys.* 2006;209:645-52.
- Blackwood L, Dobson JM. Radiotherapy of oral malignant melanomas in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1996;209:98-102.
- Blijlevens N, Sonis S. Palifermin (recombinant keratinocyte growth factor-1): a pleiotropic growth factor with multiple biological activities in preventing chemotherapy- and radiotherapy-induced mucositis. *Ann Oncol.* 2007;18:817-26.
- Bomhard D. Grundlagen der Histologie. In: Kessler M, Hrsg. *Kleintieronkologie.* 3. Aufl. Stuttgart: Parey; 2012.
- Bonan PR, Kaminagakura E, Pires FR, Vargas PA, Almeida OP. Histomorphometry and immunohistochemical features of grade 1 (WHO) oral radiomucositis. *Oral Dis.* 2007;13:170-6.
- Bonner JA, Harari PM, Giralt J, Azarnia N, Shin DM, Cohen RB et al. Radiotherapy plus Cetuximab for Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. *New Eng J Med.* 2006;354:567-78.
- Bonomi M, Batt K. Supportive Management of Mucositis and Metabolic Derangements in Head and Neck Cancer Patients. *Canc.* 2015;7:1743-57.
- Brach MA, Hass R, Sherman ML, Gunji H, Weichselbaum R. Ionizing radiation induces expression and binding activity of the nuclear factor kappa B. *J Clin Invest.* 1991;88:691-5.
- Bregazzi VS, LaRue SM, Powers BE, Fettman MJ, Ogilvie GK, Withrow SJ. Response of feline oral squamous cell carcinoma to palliative radiation therapy. *Vet Radiol Ultrasound.* 2001;42:77-9.
- Brewer WG, Turrel JM. Radiotherapy and hyperthermia in the treatment of fibrosarcomas in the dog. *J Am Vet Med A.* 1982;181:146-50.
- Briata P, D'Anna F, Franzi AT, Gherzi R. AP-1 Activity during Normal Human Keratinocyte Differentiation: Evidence for a Cytosolic Modulator of AP-1/ DNA Binding. *Exp Cell Res* 1993;204:136-46.
- Brizel DM, Herman T, Goffinet D, Sailer S, Agarwala S, Schwartz G et al. A Phase I/II Trial of Escalating Doses of Recombinant Human Keratinocyte Growth Factor (rHuKGF) in Head & Neck Cancer (HNC) Patients Receiving Radiotherapy (RT) with Concurrent Chemotherapy (CCT). *Int J Radiat Onc Biol Phys.* 2001;51:40.
- Brune K, Hinz B. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors: similarities and differences. *Scand J Rheumatol.* 2004;33:1-6.
- Brzozowska A, Idziak M, Mazurkiewicz M, Burdan F. Symptoms and treatment of radiation-induced reactions. *Pol Merkur Lekarski.* 2015;38:283-7.
- Buchholz J, Ludewig E. Wie sinnvoll ist die Strahlentherapie bei der Behandlung degenerativer Gelenkerkrankungen? *Prakt Tierarzt.* 2009;90:416-22.
- Buentzel J, Micke O, Adamietz IA, Monnier A, Glatzel M, De Vries A. Intravenous amifostine during chemoradiotherapy for head-and-neck cancer: A randomized placebo-controlled phase III study. *Int J Radiat Onc Biol Phys.* 2006;64:684-91.
- Bundesanzeiger Verlag. Celecoxib. Hg. v. Bundesanzeiger Verlag 2003 (zitiert vom 09.12.2012); Online verfügbar unter <http://www.kvwl.de/arzt/verordnung/arsneimittel/info/gba/celecoxib_gba.pdf>.
- Cassatt DR, Fazenbaker CA, Bachy CM, Kifle G, McCarthy MP. Amifostine (Ethyol) protects rats from mucositis resulting from fractionated or hyperfractionated radiation exposure. *Int J Radiat Onc Biol Phys.* 2005;61:901-7

- Cauwels RG, Martens LC. Low level laser therapy in oral mucositis: a pilot study. *Eur Arch Paed Dent.* 2011;12:118-23.
- Chang JW, Choi JW, Lee BH, Park JK, Shin YS, Oh YT et al. Protective effects of Korean red ginseng on radiation-induced oral mucositis in a preclinical rat model. *Nutr Cancer.* 2014;66:400-7.
- Ciekot PA, Powers BE, Withrow SJ, Straw RC, Ogilvie GK, LaRue SM. Histologically low-grade, yet biologically high-grade, fibrosarcomas of the mandible and maxilla in dogs: 25 cases (1982-1991). *J Am Vet Med Assoc.* 1994;204:610-5.
- Crofford LJ, Lipsky PE, Brooks P, Abramson SB, Simon LS, Van de Putte LBA. Basic biology and clinical applications of specific cyclooxygenase-2 inhibitors. *Arthritis Rheum.* 2000;43:4-13.
- De Castro G, Guindalini RSC. Supportive care in head and neck oncology. *Curr Op Oncol.* 2010;22:221-5.
- Deasy JO, Moiseenko V, Marks L, Chao KSC, Nam J, Eisbruch A. Radiotherapy Dose–Volume Effects on Salivary Gland Function. *Int J Radiat Onc Biol Phys.* 2010;76:58-63.
- Demschenko YN, Kuehl WM. A critical role for the NFκB pathway in multiple myeloma. *Oncotarget.* 2010;1:59-68.
- Deutsche Gesellschaft für Radioonkologie e.V. (DEGRO) 2006a. Supportive Maßnahmen in der Radioonkologie (zitiert vom 20.10.2015); Online verfügbar unter <<http://www.degro.org/dav/html/leitlinien/LLSupportivtherapie.pdf>>.
- Deutsche Gesellschaft für Radioonkologie e.V. (DEGRO) 2006b. Tumoren der Kopf-Hals-Region (zitiert vom 20.10.2015); Online verfügbar unter <<http://www.degro.org/dav/html/aktuelles/KopfHals.pdf>>.
- Deutsche Krebsgesellschaft 2012. Kopf-Hals-Tumoren-Überblick (zitiert vom 29.11.2012); Online verfügbar unter <http://www.krebsgesellschaft.de/pat_ka_kopf_hals_tumor_definition,108162.html>.
- Deutsche Krebshilfe e.V. und Deutsche Krebsgesellschaft. Krebs im Mund-, Kiefer-, Gesichtsbereich. 2009 (zitiert vom 18.01.2017), ISSN 0946-4816; Online verfügbar unter <https://www.krebshilfe.de/fileadmin/Downloads/PDFs/Blaue_Ratgeber/012_0025.pdf>.
- Di Nicola L, Gravina GL, Marampon F, Bonfili P, Buonopane S, Di Staso M et al. The impact of conventional or hypofractionated radiotherapy on voice quality and oncological outcome in patients with early glottic cancer. *Oncol Rep.* 2010;24:1383-8.
- Dorè M. Cyclooxygenase-2 Expression in Animal Cancers. *Vet Pathol.* 2011;48:254-65.
- Dörr W. Untersuchungen zur Strahlenreaktion des unbehandelten und stimulierten Zungenepithels der Maus (Dissertation med. vet.). München: Ludwig-Maximilian-Universität; 1987.
- Dörr W. Strahlenbiologische Parameter der radiogenen Mucositis enoralis (Habilitation). Dresden: Technische Universität; 1997a.
- Dörr W. Modulation of repopulation processes in oral mucosa: experimental results. *Int J Radiat Biol.* 2003a;79:531-7.
- Dörr W. Oral Mucosa: Response Modification by Keratinocyte Growth Factor. In: Nieder C, Andratschke N, Hrsg. Modification of radiation response. Berlin, Heidelberg, New York, Hong Kong, London, Milan, Paris, Tokyo: Springer; 2003b. p. 113-22.
- Dörr W. Prävention und Therapie von Nebenwirkungen in der Radioonkologie. 1. Aufl. Bremen: Uni-Med; 2005.
- Dörr W. Skin and Other Reactions to Radiotherapy-Clinical Presentation and Radiobiology of Skin Reactions. *Front Radiat Ther On.* 2006a;39:96-101.

- Dörr W. Strahlenpathologie. In: Wannemacher M, Debus J, Wenz F, Hrsg. Strahlentherapie. Berlin-Heidelberg: Springer; 2006b. p. 81-91.
- Dörr W. Pathogenesis of normal tissue side effects. In: Van der Kogel A, Joiner M, Hrsg. Basic clinical radiobiology. 4. Aufl. London: Hodder Arnold; 2009. p. 169-90.
- Dörr W. Strahlenwirkung am Normalgewebe. Nuklearmed. 2010;6:53-8.
- Dörr W. Radiobiology of tissue reactions. Ann ICRP. 2015;44:58-68.
- Dörr W, Arui J, Beisker W, Schultz-Hector S. Cell kinetic studies in mouse tongue mucosa by autoradiographic, immunohistochemical and flow cytometric techniques. Cell Prolif. 1994a;27:321-32.
- Dörr W, Bässler S, Reichel S, Spekl K. Reduction of radiochemotherapy-induced early oral mucositis by recombinant human keratinocyte growth factor (Palifermin): Experimental studies in mice. Int J Radiat Onc Biol Phys. 2005a;62:881-7.
- Dörr W, Baumann M, Herrmann T. Die Nomenklatur modifizierter Fraktionierungsprotokolle in der Strahlentherapie. Strahlenther Onkol. 1996;172:353-5.
- Dörr W, Brankovic K, Hartmann B. Repopulation in mouse oral mucosa: changes in the effect of dose fractionation. Int J Radiat Biol. 2000;76:383-90.
- Dörr W, Breitner A, Kummermehr J. Capacity and kinetics of SLD repair in mouse tongue epithelium. Radiother Oncol. 1993;27:36-45.
- Dörr W, Dölling-Jochem I, Baumann M, Herrmann T. Therapeutische Beeinflussung der radiogenen oralen Mukositis. Strahlenther Onkol. 1997;173:183-92.
- Dörr W, Emmendorfer EH, Kummermehr J. Proliferation equivalent of 'accelerated repopulation' in mouse oral mucosa. Int J Radiat Onc Biol Phys. 1994b;66:157-67.
- Dörr W, Emmendorfer EH, Weber-Frisch M. Tissue kinetics in mouse tongue mucosa during daily fractionated radiotherapy. Cell Prolif. 1996;29:495-504.
- Dörr W, Groetz KA, Hartmann JT, Riesenbeck D. Orale Mukositis. Onkologe. 2007;13:150-7.
- Dörr W, Hamilton CS, Boyd T, Reed B, Denham JW. Radiation-induced changes in cellularity and proliferation in human oral mucosa. Int J Radiat Onc Biol Phys. 2002;52:911-7.
- Dörr W, Hartmann JD, Riesenbeck D, Grötz KA. Mundschleimhaut. In: Feyer P, Hrsg. Supportivtherapie in der Onkologie. München: Urban & Vogel; 2009. p. 72-82.
- Dörr W, Hendry J. Consequential late effects in normal tissues. Radiother Oncol. 2001;61:223-31.
- Dörr W, Herrmann T. Akute Strahlenveränderungen der Gewebe. In: Bamberg M, Molls M, Sack H, Hrsg. Radioonkologie. München [u.a.]: Zuckschwerdt; 2003. p. 244-50.
- Dörr W, Herrmann T, Reitemeier B, Riesenbeck D, Grötz KA. Folgen der Strahlentherapie in der Mundhöhle. In: Zahnmed up2date, Hrsg. Oralmedizin. 5. Aufl.: Thieme; 2008. p. 543-69.
- Dörr W, Jacubek A, Kummermehr J, Herrmann T, Dölling-Jochem I, Eckelt U. Effects of stimulated repopulation on oral mucositis during conventional radiotherapy. Radiother Oncol. 1995;37:100-7.
- Dörr W, Kummermehr J. Accelerated repopulation of mouse tongue epithelium during fractionated irradiations or following single doses. Radiother Oncol. 1990;17:249-59.
- Dörr W, Kummermehr J. Proliferation kinetics of mouse tongue epithelium under normal conditions and following single dose irradiation. Virchows Arch B. 1991;60:287-94.
- Dörr W, Kummermehr J. Increased radiation tolerance of mouse tongue epithelium after local conditioning. Int J Radiat Biol. 1992;61:369-79.

- Dörr W, Obeyesekere MN. A mathematical model for cell density and proliferation in squamous epithelium after single-dose irradiation. *Int J Radiat Biol.* 2001;77:497-505.
- Dörr W, Riesenbeck D. Mundhöhle. In: Dörr W, Zimmermann J, Seegenschmiedt M, Hrsg. Nebenwirkungen in der Radioonkologie. München: Urban & Vogel; 2000. p. 130-42.
- Dörr W, Riesenbeck D, Nieder C. Early and late treatment-induced toxicity. In: Brown J, Mehta M, Nieder C, Hrsg. Multimodal concepts for integration of cytotoxic drugs and radiation therapy. Berlin-Heidelberg-New York: Springer; 2006. p. 317-32.
- Dörr W, Schlichting S, Bray MA, Flockhart IR, Hopewell JW. Effects of dexpanthenol with or without Aloe vera extract on radiation-induced oral mucositis: Preclinical studies. *Int J Radiat Biol.* 2005b;81:243-50.
- Dörr W, Trott KR. Strahlenbiologie der Normalgewebe. In: Dörr W, Zimmermann J, Seegenschmiedt M, Hrsg. Nebenwirkungen in der Radioonkologie. München: Urban & Vogel; 2000. p. 9-23.
- Dörr W, Weber-Frisch M. Effect of changing weekly dose on accelerated repopulation during fractionated irradiation of mouse tongue mucosa. *Int J Radiat Biol.* 1995;67:577-85.
- Dorsch RMH. Radiotherapie bei Hund und Katze. Eine Literaturstudie (Dissertation med. vet.). München: Ludwig-Maximilian-Univ.; 2002.
- Durrant S, Pico JL, Schmitz N. A phase I study of recombinant keratinocyte growth factor (rHUKGF) in lymphoma patients receiving high-dose chemotherapy with autologous peripheral blood progenitor cell transplantation. *Blood.* 1999;94:abstract.
- Egan LJ, Eckmann L, Greten FR, Chae S, Li ZW, Myhre GM. I κ B-kinase-dependent NF- κ B activation provides radioprotection to the intestinal epithelium. *Proc Natl Acad Sci.* 2004;101:2452-7.
- Eger A. Modulation strahleninduzierter Veränderungen der Expression von c-Jun und IL-1 α in der Mundschleimhaut (Maus) durch Keratinozytenwachstumsfaktor (Dissertation med.). Dresden: Technische Universität; 2009.
- Eichelberg H, Seine R. Lebenserwartung und Todesursache bei Hunden. Zur Situation bei Mischlingen und verschiedenen Rassehunden. *Tierärztl Wochenschr Berlin München.* 1996;109:191-203.
- Elting LS, Cooksley CD, Chambers MS, Garden AS. Risk, Outcomes, and Costs of Radiation-Induced Oral Mucositis Among Patients With Head-and-Neck Malignancies. *Int J Radiat Onc Biol Phys.* 2007;68:1110-20.
- Elting LS, Keefe DM, Sonis ST, Garden AS, Spijkervet FKL, Barasch A et al. Patient-reported measurements of oral mucositis in head and neck cancer patients treated with radiotherapy with or without chemotherapy. *Cancer.* 2008;113:2704-13.
- Epstein JB, Klasser GD. Emerging approaches for prophylaxis and management of oropharyngeal mucositis in cancer therapy. *Expert Opin Emerging Drugs.* 2006;11:353-73.
- Evans SM, LaCreta F, Helfand S, VanWinkle T, Curran WJ, Brown DQ, Hanks G. Technique, pharmacokinetics, toxicity, and efficacy of intratumoral etanidazole and radiotherapy for treatment of spontaneous feline oral squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Onc Biol Phys.* 1991;20:703-8.
- Evans SM, Shofer F. Canine oral nontonsillar squamous cell carcinoma. *Vet Radiology.* 1988;29:133-7.
- Farrelly J, Denman DL, Hohenhaus AE, Patnaik AK, Bergman PJ. Hypofractionated radiation therapy of oral melanoma in five cats. *Vet Radiol Ultrasound.* 2004;45:91-3.

- Fehrmann A. Interaktion einer Blockade des Rezeptors für den Epidermalen Wachstumsfaktor (EGFR) mit der Gabe von Keratinozyten- Wachstumsfaktor (KGF) bei der Strahlenreaktion der Mundschleimhaut- tierexperimentelle Untersuchungen an Mäusen (Dissertation med. vet.). Leipzig: Univ. Leipzig; 2009.
- Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) Working Group on Health Monitoring of Rodent and Rabbit 2001. Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units- accepted by the Board of Management on 9 June 2001 (London). Unter Mitarbeit von Nicklas W, Baneux P, Boot R, Decelle T, Deeny AA, Fumanelli M, Illgen-Wilcke B.
- Feng CJ, Guo JB, Jiang HW, Zhu SX, Li CY, Cheng B et al. Spatio-temporal localization of HIF-1 α and COX-2 during irradiation-induced oral mucositis in a rat model system. *Int J Radiat Biol.* 2008;84:35-45.
- Fidel JL, Lyons J, Tripp C, Houston R, Wheeler B, Ruiz A. Treatment of Oral Squamous Cell Carcinoma with Accelerated Radiation Therapy and Concomitant Carboplatin in Cats. *J Vet Intern Med.* 2011;25:504-10.
- Fidel JL, Sellon RK, Houston RK, Wheeler BA. A nine-day accelerated radiation protocol for feline squamous cell carcinoma. *Vet Radiol Ultrasound.* 2007;48:482-5.
- Finch PW, Rubin JS. Keratinocyte Growth Factor Expression and Activity in Cancer: Implications for Use in Patients With Solid Tumors. *JNCI.* 2006;98:812-24.
- Fleischer G, Dörr W. Amelioration of Early Radiation Effects in Oral Mucosa (Mouse) by Intravenous or Subcutaneous Administration of Amifostine. *Strahlenther Onkol.* 2006;182:567-75.
- Forrest LJ, Chun R, Adams WM, Cooley AJ, Vail DM. Postoperative Radiotherapy for Canine Soft Tissue Sarcoma. *J Vet Intern Med.* 2000;14:578-82.
- Freeman KP, Hahn KA, Harris FD, King GK. Treatment of Dogs with Oral Melanoma by Hypofractionated Radiation Therapy and Platinum-Based Chemotherapy (1987-1997). *J Vet Intern Med.* 2003;17:96-101.
- Funakoshi-Tago M, Shimizu T, Tago K. Celecoxib potently inhibits TNF α -induced nuclear translocation and activation of NF- κ B. *Biochem Pharmacol.* 2008;76:662-71.
- Gardner H, Fidel J, Halderson G, Dernell W, Wheeler B. Canine oral fibrosarcomas: a retrospective analysis of 65 cases (1998-2010). *Vet Comp Oncol.* 2015;13:40-7.
- Genot MT, Klastersky J. Low-level laser for prevention and therapy of oral mucositis induced by chemotherapy or radiotherapy. *Curr Opin Oncol.* 2005;17:236-40.
- Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V.. Atlas der Krebsinzidenz und Krebsmortalität der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V.-Ergebnisse der Hochrechnungen für Deutschland (Datenstand 2010) (zitiert vom 25.10.2013); Online verfügbar unter <www.gekid.de>.
- Glöwing B. Diagnose Krebs beim Hund. Hg. v. Dogs Magazin (zitiert vom 13.03.2013); Online verfügbar unter <<http://www.dogs-magazin.de/gesundheit/diagnose-krebs-beim-hund-65071.html>>.
- Goepf R, Fitch FW. Pathological study of oral radiation death in mice. *Radiat Res.* 1962;16:641-5.
- Grötz KA. Wissenschaftliche Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (DGZMK): Zahnärztliche Betreuung von Patienten mit tumortherapeutischer Kopf-Hals-Bestrahlung. *Strahlenther Onkol.* 2003;179:275-8.
- Grötz KA, Riesenbeck D, Dörr W. Die Mundhöhle des Patienten mit Kopf-Hals-Strahlentherapie-Intradiotherapeutische Betreuung. *Focus Onkol.* 2003;22:63-5.

- Gu J, Zhu S, Li X, Wu H, Li Y, Hua F. Effect of amifostine in head and neck cancer patients treated with radiotherapy: a systematic review and meta-analysis based on randomized controlled trials. *PLoS ONE*. 2014;9:1-9.
- Gulshan A, Watkins BA, Zhong H, Hawthorne TR, Karkaria CE, Sonis ST, Laroche WJ. Velafermin (rhFGF-20) reduces the severity and duration of hamster cheek pouch mucositis induced by fractionated radiation. *Int J Radiat Biol*. 2008;84:401-12.
- Haagen J, Krohn H, Röllig S, Schmidt M, Wolfram K, Dörr W. Effect of selective inhibitors of inflammation on oral mucositis: Preclinical studies. *Radiother Oncol*. 2009;92:472-6.
- Hackbarth S. Expression von MAPK und NF- κ B p50 in der Mundschleimhaut (Maus) unter fraktionierter Bestrahlung-Einfluss einer EGFR-Inhibition (Bachelorarbeit Biotechnologie). Dresden: Technische Universität; 2010.
- Hawkey CJ. COX-2 inhibitors. *Lancet*. 1999;353:307-14.
- Hayes AM, Adams VJ, Scase TJ, Murphy S. Survival of 54 cats with oral squamous cell carcinoma in United Kingdom general practice. *J Small Anim Pract*. 2007;48:394-9.
- Hehlgans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology*. 2005;115:1-20.
- Henke M, Alfonsi M, Foa P, Giralt J, Bardet E, Cerezo L, Salzwimmer M, Lizambri R, Emmerson L, Chen MG, Berger D. Palifermin decreases severe oral mucositis of patients undergoing postoperative radiochemotherapy for head and neck cancer: a randomized, placebo-controlled trial. 2011;29:2815-20
- Herrmann T, Baumann M, Dörr W. *Klinische Strahlenbiologie*. 4. Aufl. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2006.
- Hoffman KE, Pugh SL, James JL, Scarantino C, Movsas B, Valicenti RK et al. The impact of concurrent granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on quality of life in head and neck cancer patients: results of the randomized, placebo-controlled Radiation Therapy Oncology Group 9901 trial. *Qual Life Res*. 2014;23:1841-58.
- Hood WF, Gierse JK, Isakson PC, Kiefer JR, Kurumbail RG, Seibert K, Monahan JB. Characterization of Celecoxib and Valdecoxib Binding to Cyclooxygenase. *Mol Pharmacol*. 2003;63:870-7.
- Hutson CA, Willauer CC, Walder EJ, Stone JL, Klein MK. Treatment of mandibular squamous cell carcinoma in cats by use of mandibulectomy and radiotherapy: seven cases (1987-1989). *J Am Vet Med Assoc*. 1992;201:777-81.
- Irvine E, Dwivedi RJ, Nutting CM, Harrington KJ. Treatment-related dysgeusia in head and neck cancer patients. *Cancer Treat Rev*. 2014;40:1106-17.
- Jaal J, Dörr W. Acute radiation effects on COX-2 expression in the mouse urinary bladder. In: Baumann M, Hrsg. *Proceedings des 13. Symposiums für Experimentelle Strahlentherapie und Klinische Strahlenbiologie*; 4.-6. März 2004; Dresden; 2004
- Johnson J, Johansson M, Rydén A, Houltz E, Finizia C. The impact of trismus on health-related quality of life and mental health. *Head Neck*. 2014;37:1-27.
- Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of Cancer Incidence, Mortality, and Prevalence Across Five Continents: Defining Priorities to Reduce Cancer Disparities in Different Geographic Regions of the World. *J Clin Oncol*. 2006;24:2137-50.
- Kandel B. *Strahlentherapie in der Kleintierpraxis*. *Prakt Tierarzt*. 2004;85:476-81.
- Karstens JH, Bremer M, Meier K, Bruns F, Meyer A, Werner M, Janssen S. *Strahlentherapie und Radioonkologie aus interdisziplinärer Sicht*. 5. Aufl. Berlin: Lehmanns Media; 2010.
- Kaser-Hotz B. *Prinzipien der Strahlentherapie*. In: Kessler M, Hrsg. *Kleintieronkologie*. 3. Aufl. Stuttgart: Parey; 2012. p. 132-40.

- Keefe DM, Schubert MM, Elting LS, Sonis ST, Epstein JB, Raber-Durlacher JE et al. Updated clinical practice guidelines for the prevention and treatment of mucositis. *Cancer*. 2007;109:820-31.
- Kessler M. Kleintieronkologie-Diagnose und Therapie von Tumorerkrankungen bei Hunden und Katzen. 3. Aufl. Stuttgart: Parey; 2012a
- Kessler M. Prinzipien chirurgischer Onkologie. In: Kessler M, Hrsg. Kleintieronkologie. 3. Aufl. Stuttgart: Parey; 2012b. p. 78-95.
- Kessler M. Prinzipien der Chemotherapie. In: Kessler M, Hrsg. Kleintieronkologie. 3. Aufl. Stuttgart: Parey; 2012c. p. 96-131.
- Kessler M. Problemorientierte Diagnostik. In: Kessler M, Hrsg. Kleintieronkologie. 3. Aufl. Stuttgart: Parey; 2012d. p. 33-76.
- Kessler M. Tumoren der Maulhöhle. In: Kessler M, Hrsg. Kleintieronkologie. 3. Aufl. Stuttgart: Parey; 2012e. p. 257-79.
- Kietzmann M, Scherkl R, Schulz R. Pharmakologie der Entzündung und der Allergie. In: Frey HH, Hrsg. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin. 2. Aufl. Stuttgart: Enke; 2007. p. 318-44.
- Kim MJ, Lee KH, Lee SJ. Ionizing radiation utilizes c-Jun N-terminal kinase for amplification of mitochondrial apoptotic cell death in human cervical cancer cells. *FEBS J*. 2008;275:2096-108.
- King GK, Harris DK, Stephens S, McMahon R, Haug G, Dailey R. Successful local control of oral malignant melanoma in dogs using chemoradiation-69 dogs (1986-1999). *Proceedings of the Annual Conference ACVR; Chicago; 1999*
- Klammt S. Einfluss einer Nachbehandlung mit Keratinozyten-Wachstumsfaktor (rHuKGF, Palifermin) auf die Mucositis enoralis (Maus) nach Einzeitbestrahlung: Histologische und immunhistochemische Untersuchungen (Dissertation med. dent.). Dresden: Technische Universität; 2005.
- Kohn B, Niemand HG, Suter PF. *Praktikum der Hundeklinik*. 11. Aufl. Stuttgart: Enke; 2012.
- Konturek SJ, Pawlik W. Physiology and Pharmacology of Prostaglandins. *Digest Dis Sci*. 1986;31:6-19.
- Kopf-Hals-Tumorstiftung. Online verfügbar unter <<http://www.kopf-hals-tumorstiftung.org>>, zuletzt geprüft am 27.08.2015.
- Lacheretz A, Moreau D, Cathelain H. Causes of death and life expectancy in carnivorous pets (I). *Rev Med Vet*. 2002;153:819-22.
- LaDue-Miller T, Price GS, Page RL, Thrall DE. Radiotherapy of canine non-tonsillar squamous cell carcinoma. *Vet Radiol Ultrasound*. 1996;37:74-7.
- Lalla RV, Choquette LE, Curley KF, Dowsett RJ, Feinn RS, Hegde UP et al. Randomized double-blind placebo-controlled trial of celecoxib for oral mucositis in patients receiving radiation therapy for head and neck cancer. *Oral Oncol*. 2014;50:1098-103.
- Lalla RV, Pilbeam CC, Walsh SJ, Sonis ST, Keefe DMK, Peterson DE. Role of the cyclooxygenase pathway in chemotherapy-induced oral mucositis: a pilot study. *Support Care Cancer*. 2010;18:95-103.
- Lalla RV, Schubert MM, Bensadoun RJ, Keefe D. Anti-inflammatory agents in the management of alimentary mucositis. *Support Care Cancer*. 2006;14:558-65.

- Lang S, Schmidt M, Dörr W. Modulation strahleninduzierter Veränderungen der COX2-Expression in der Mundschleimhaut (Maus) durch Keratinozyten-Wachstumsfaktor. 11. Jahrestagung der Gesellschaft für Biologische Strahlenforschung; 6.-8. Oktober 2008; Tübingen, 2008
- Le QT, Kim HE, Schneider CJ, Muraközy G, Skladowski K, Reinisch S et al. Palifermin reduces severe mucositis in definitive chemoradiotherapy of locally advanced head and neck cancer: a randomized, placebo-controlled study. *J Clin Oncol.* 2011;29:2808-14.
- Lee SW, Jung KI, Kim YW, Jung HD, Kim HS, Hong JP. Effect of epidermal growth factor against radiotherapy-induced oral mucositis in rats. *Int J Radiat Onc Biol Phys.* 2007;67:1172-8.
- Li CJ, Wang SZ, Wang SY, Zhang YP. Assessment of the effect of local application of amifostine on acute radiation-induced oral mucositis in guinea pigs. *J Radiat Res.* 2014;55:847-54.
- Liang L, Hu D, Liu W, Williams JP, Okunieff P, Ding I. Celecoxib Reduces Skin Damage After Radiation. *Am J Clin Oncol-Canc.* 2003;26:114-21.
- Liebich HG. Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel. 5. Aufl. Stuttgart: Schattauer; 2010. p. 39-42.
- Lin A, Dibling B. The true face of JNK activation in apoptosis. *Aging Cell.* 2002;1:112-6.
- Lino MD, Carvalho FB, Oliveira LR, Magalhaes EB, Pinheiro AL, Ramalho LM. Laser phototherapy as a treatment for radiotherapy-induced oral mucositis. *Braz Dent J.* 2011;22:162-5.
- Logan RM, Gibson RJ, Sonis ST, Keefe DMK. Nuclear factor- κ B (NF- κ B) and cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in the oral mucosa following cancer chemotherapy. *Oral Oncol.* 2007a;43:395-401.
- Logan RM, Stringer AM, Bowen JM, Yeoh ASJ, Gibson RJ, Sonis ST, Keefe DMK. The role of pro-inflammatory cytokines in cancer treatment-induced alimentary tract mucositis: Pathobiology, animal models and cytotoxic drugs. *Canc Treat Rev.* 2007b;33:448-60.
- Losch FO. Aktivierung von T-Lymphozyten durch melanomspezifische variante Antigen-Rezeptoren (Dissertation Biologie). Freiburg im Breisgau: Albert-Ludwigs-Univ.; 2001.
- Lucchese A, Matarese G, Isola G, Gastaldi G, Manuelli M, Gherlone E. Efficacy and effects of palifermin for the treatment of Oral Mucositis in paediatric patients affected by Acute Lymphoblastic Leukemia. *Leukemia Lymphoma.* 2015;57:1-24.
- Maciejewski B, Zajusz A, Pilecki B, Swiatnicka J, Skladowski K, Dörr W et al. Acute mucositis in the stimulated oral mucosa of patients during radiotherapy for head and neck cancer. *Radiother Oncol.* 1991;22:7-11.
- MacMillan R, Withrow SJ, Gillette EL. Surgery and regional irradiation for treatment of canine tonsillar squamous cell carcinomas. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1982;18:311-4.
- Maeng HG, Kim DN, Cho SK, Cha JH, Kim TY, Lee YS et al. Altered immune cell proportions in the radiodermatitis induced hairless mice-1 (HR-1). *J Radiat Res.* 2006;47:9-17.
- Maier TJ, Schilling K, Schmidt R, Geisslinger GG, Grösch S. Cyclooxygenase-2 (COX-2)-dependent and -independent anticarcinogenic effects of celecoxib in human colon carcinoma cells. *Biochem Pharmacol.* 2004;67:1469-78.
- Mallick S, Benson R, Rath GK. Radiation induced oral mucositis: a review of current literature on prevention and management. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2016;273:2285-93
- Manikantan K, Khode S, Sayed SI, Roe J, Nutting CM, Rhys-Evans P et al. Dysphagia in head and neck cancer. *Cancer Treat Rev.* 2009;35:724-32.

- Mao X, Orchard G, Mitchell TJ, Oyama N, Russell-Jones R, Vermeer MH et al. A genomic and expression study of AP-1 in primary cutaneous T-cell lymphoma: evidence for dysregulated expression of JUNB and JUND in MF and SS. *J Cutan Pathol.* 2008;35:899-910.
- Masucci G, Broman P, Kelly C, Lindahl S, Malmberg L, Reizenstein J et al. Therapeutic efficacy by recombinant human granulocyte/monocyte-colony stimulating factor on mucositis occurring in patients with oral and oropharynx tumors treated with curative radiotherapy: a multicenter open randomized phase III study. *Med Oncol.* 2005;22:247-56.
- Mathas S. Aberrantly expressed c-Jun and JunB are a hallmark of Hodgkin lymphoma cells, stimulate proliferation and synergize with NF-kappaB. *EMBO J.* 2002;21:4104-13.
- McAleese JJ, Bishop KM, A'Hern R, Henk JM. Randomized phase II study of GM-CSF to reduce mucositis caused by accelerated radiotherapy of laryngeal cancer. *Brit J Radiol.* 2006;79:608-13.
- McDonald C, Looper J, Greene S. Response rate and duration associated with a 4 Gy 5 fraction palliative radiation protocol. *Vet Radiol Ultrasound.* 2012;53:358-64.
- McLaughlin L. Taste Dysfunction in Head and Neck Cancer Survivors. *Oncol N Forum.* 2013;40:E4-13.
- Mehic D, Bakiri L, Ghannadan M, Wagner EF, Tschachler E. Fos and Jun Proteins Are Specifically Expressed During Differentiation of Human Keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2005;124:212-20.
- Misdorp W. Ätiologie und Pathologie von Krebserkrankungen. In: Kessler M, Hrsg. *Kleintieronkologie.* 3. Aufl. Stuttgart: Parey; 2012. p. 1-16.
- Miyakawa A, Shibamoto Y, Otsuka S, Iwata H. Applicability of the linear-quadratic model to single and fractionated radiotherapy schedules: an experimental study. *J Radiat Res.* 2014;55:451-4.
- Moses R, Kummermehr J. Radiation response of mouse tongue mucosa. *Brit J Cancer.* 1986;53:12-5.
- Münter MW, Hoffner S, Hof H, Herfarth KK, Haberkorn U, Rudat V et al. Changes in salivary gland function after radiotherapy of head and neck tumors measured by quantitative pertechnetate scintigraphy: Comparison of intensity-modulated radiotherapy and conventional radiation therapy with and without Amifostine. *Int J Radiat Onc Biol Phys.* 2007;67:651-9.
- Murphy BA. Clinical and economic consequences of mucositis induced by chemotherapy and/or radiation therapy. *J Support Oncol.* 2007;5:13-21.
- Nasilowska-Adamska B, Rzepecki P, Manko J, Czyz A, Markiewicz M, Federowicz I et al. The influence of palifermin (Kepivance) on oral mucositis and acute graft versus host disease in patients with hematological diseases undergoing hematopoietic stem cell transplant. *Bone Marrow Transpl.* 2007;40:983-8.
- National Cancer Institute (NCI) 2006; Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) (zitiert vom 19.03.2013); Online verfügbar unter <http://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/ctc.htm>.
- Neiger R. Handhabung von Chemotherapeutika. In: Kessler M, Hrsg. *Kleintieronkologie.* 3. Aufl. Stuttgart: Parey; 2012a. p. 134-8.
- Neiger R. Prinzipien der Immunotherapie. In: Kessler M, Hrsg. *Kleintieronkologie.* 3. Aufl. Stuttgart: Parey 2012b. p. 163-72.
- Neub A, Houdek P, Ohnemus U, Moll I, Brandner JM. Biphasic Regulation of AP-1 Subunits during Human Epidermal Wound Healing. *J Invest Dermatol.* 2007;127:2453-62.

- Nicolatou-Galitis O, Sarri T, Bowen J, Di Palma M, Kouloulis V, Niscola P et al. Systematic review of amifostine for the management of oral mucositis in cancer patients. *Support Care Cancer*. 2013;21:357-64
- Niemand HG, Suter PF. *Praktikum der Hundeklinik*. 9. Aufl. Berlin: Parey; 2001.
- Niewald M, Holtmann H, Mang K, Holtmann H, Spitzer WJ, Rube C. Dental status, dental rehabilitation procedures, demographic and oncological data as potential risk factors for infected osteoradionecrosis of the lower jaw after radiotherapy for oral neoplasms: a retrospective evaluation. *Radiat Oncol*. 2013;8:1-12.
- Niewald M, Mang K, Barbie O, Fleckenstein J, Holtmann H, Spitzer WJ, Rube C. Dental status, dental treatment procedures and radiotherapy as risk factors for infected osteoradionecrosis (IORN) in patients with oral cancer – a comparison of two 10 years' observation periods. *SpringerPlus*. 2014;3:1-12.
- Nund RL, Scarinci NA, Cartmill B, Ward EC, Kuipers P, Porceddu SV. Application of the International Classification of Functioning, Disability and Health (ICF) to People with Dysphagia Following Non-surgical Head and Neck Cancer Management. *Dysphagia*. 2014; 29:692-703.
- Ogilvie GK, Moore AS, Obradovich JE, Elmslie RE, Vail DM, Straw RC et al. Toxicoses and efficacy associated with administration of mitoxantrone to cats with malignant tumors. *J Am Vet Med Assoc*. 1993;202:1839-44.
- Palmer GH, Machado J, Fernandez P, Heussler V, Perinat T, Dobbelaere DAE. Parasite-mediated nuclear factor κ B regulation in lymphoproliferation caused by *Theileria parva* infection. *P Natl Acad Sci*. 1997;94:12527-32.
- Parkins CS, Fowler JF, Yu S. A murine model of lip epidermal/mucosal reactions to X-irradiation. *Radiat Oncol*. 1983;1:159-65.
- Patel MI, Subbaramaiah K, Du B. Celecoxib Inhibits Prostate Cancer Growth: Evidence of a Cyclooxygenase-2-Independent Mechanism. *Clin Cancer Res*. 2005;11:1999-2007.
- Pauli N, Andréll P, Johansson M, Fagerberg-Mohlin B, Finizia C. Treating trismus - a prospective study on effect and compliance to jaw exercise therapy in head and neck cancer. *Head Neck*. 2014a:1-27.
- Pauli N, Fagerberg-Mohlin B, Andréll P, Finizia C. Exercise intervention for the treatment of trismus in head and neck cancer. *Acta Oncol*. 2014b;53:502-9.
- Pauli N, Johnson J, Finizia C, Andréll P. The incidence of trismus and long-term impact on health-related quality of life in patients with head and neck cancer. *Acta Oncol*. 2013;52:1137-45.
- Pfleghaar S. Nomenklatur und Klassifikation von Tumoren. In: Kessler M, Hrsg. *Kleintieronkologie*. 3. Aufl. Stuttgart: Parey; 2012. p. 42-9.
- Phillips RKS, Wallace MH, Lynch PM, Hawk E, Gordon GB, Saunders BP et al. A randomised, double blind, placebo controlled study of celecoxib, a selective cyclooxygenase 2 inhibitor, on duodenal polyposis in familial adenomatous polyposis. *Gut*. 2002;50:857-60.
- Poirier VJ, Bley CR, Roos M, Kaser-Hotz B. Efficacy of Radiation Therapy for the Treatment of Macroscopic Canine Oral Soft Tissue Sarcoma. *In Vivo*. 2006;20:415-20.
- Poirier VJ, Kaser-Hotz B, Vail DM, Straw RC. Efficacy and toxicity of an accelerated hypofractionated therapy protocol in cats with oral squamous cell carcinoma. *Vet Radiol Ultrasound*. 2012;54:81-8.
- Postorino Reeves NC, Turrel JM, Withrow SJ. Oral squamous cell carcinoma in the cat. *J Am Anim Hosp Assoc*. 1993;29:438-41.

- Proulx DR, Ruslander DM, Dodge RK, Hauck ML, Williams LE, Horn B et al. A retrospective analysis of 140 dogs with oral melanoma treated with external beam radiation. *Vet Radiol Ultrasound*. 2003;44:352-9.
- Radiation Therapy Oncology Group (RTOG). RTOG/EORTC Late Radiation Morbidity Scoring Schema (zitiert vom 19.10.2015); Online verfügbar unter <<http://www.rtog.org/ResearchAssociates/AdverseEventReporting/RTOGEORTCLateRadiationMorbidityScoringSchema.aspx>>.
- Ramirez O, Dodge RK, Page RL, Price GS, Hauck ML, Ladue TA et al. Palliative radiotherapy of appendicular osteosarcoma in 95 dogs. *Vet Radiol Ultrasound*. 1999;40:517-22.
- Rancati T, Schwarz M, Allen AM, Feng F, Popovtzer A, Mittal B, Eisbruch A. Radiation Dose-Volume Effects in the Larynx and Pharynx. *Int J Radiat Onc Biol Phys*. 2010;76:64-9.
- Rezvani M, Ross GA. Modification of radiation-induced acute oral mucositis in the rat. *Int J Radiat Biol*. 2004;80:177-82.
- Roos M. Radiotherapie. *Onkologe*. 2012;18:720-2.
- Rosenthal DI, Trotti A. Strategies for Managing Radiation-Induced Mucositis in Head and Neck Cancer. *Semin Radiat Oncol*. 2009;19:29-34.
- Ruo RMG, Allis S. Radiotherapy-induced taste impairment. *Cancer Treat Rev*. 2006;32:541-7.
- Russo G, Haddad R, Posner M, Machtay M. Radiation Treatment Breaks and Ulcerative Mucositis in Head and Neck Cancer. *Oncologist*. 2008;13:886-98.
- Ryu JK, Swann S, LeVegue F, Scarantino CW, Johnson D, Chen A et al. The impact of concurrent granulocyte macrophage-colony stimulating factor on radiation-induced mucositis in head and neck cancer patients: a double-blind placebo-controlled prospective phase III study by RTOG 9901. *Int J Radiat Onc Biol Phys*. 2007;67:643-50.
- Sadam. Tumorimmunologie. Hg. v. Universität Kiel. Institut für Immunologie, Vortragsunterlagen (zitiert vom 14.05.2014); Online verfügbar unter <<http://www.uni-kiel.de/immunologie/ag/sadam/vorlesung/Tumorimmunologie.pdf>>.
- Salomon FV. Verdauungsapparat. In: Salomon FV und Achilles W, Hrsg. *Anatomie für die Tiermedizin*. 2. Aufl. Stuttgart: Enke; 2008.
- Sanguineti G, Ricchetti F, McNutt T, Wu B, Fiorino C. Dosimetric Predictors of Dysphonia after Intensity-modulated Radiotherapy for Oropharyngeal Carcinoma. *Clin Oncol*. 2014;26:32-8.
- Sasse AD, De Oliveira Clark LG, Sasse EC, Clark OAC. Amifostine reduces side effects and improves complete response rate during radiotherapy: Results of a meta-analysis. *Int J Radiat Onc Biol Phys*. 2006;64:784-91.
- Satheeshkumar PS, Mohan MP. Reflectory trismus in head and neck cancer. *Oral Oncol*. 2013;49:23-4.
- Scardina GA, Pisano T, Messina P. Oral Mucositis. *NY State Dent J*. 2010;76:34-8.
- Schmidt H. Beeinflussung der Strahlenreaktion der Mundschleimhaut durch den Immunmodulator WF10: Tierexperimentelle Untersuchungen (Dissertation med.). Dresden: Technische Universität; 2009.
- Schmoll HJ, Höffken K, Possinger K. *Kompendium internistische Onkologie-Standards in Diagnostik und Therapie*. 4. Aufl. Heidelberg: Springer Medizin; 2006.
- Seegenschmiedt MH, Müller RP, Höffken K, Junginger T, Sauer H. LENT-SOMA-Kriterien. *Deutsches Ärzteblatt*. 2000;97:2395-401.

- Seegenschmiedt MH, Zimmermann JS. Dokumentation von Nebenwirkungen. In: Dörr W, Zimmermann J, Seegenschmiedt M, Hrsg. Nebenwirkungen in der Radioonkologie. München: Urban & Vogel; 2000. p. 45-72.
- Seo KW, Coh YR, Rebhun RB, Ahn JO, Han SM, Lee HW, Youn HY. Antitumor effects of celecoxib in COX-2 expressing and non-expressing canine melanoma cell lines. *Res Vet Sci.* 2014;96:482-6.
- Shin YS, Shin HA, Kang SU, Kim JH, Oh YT, Park KH, Kim CH. Effect of epicatechin against radiation-induced oral mucositis: in vitro and in vivo study. *PLoS ONE.* 2013;8:1-12.
- Siegemund E. Optimierung des Applikationsprotokolls des rekombinanten humanen Keratinozyten-Wachstumsfaktor Palifermin zur Reduktion der radiogenen oralen Mukositis nach einzeitiger Strahlenexposition: Untersuchungen an der Mundschleimhaut der Maus (Dissertation vet. med.). Leipzig: Universität Leipzig; 2010.
- Simon D, Ruslander DM, Rassnick KM, Wood CA, Frimberger AE, Cotter SM et al. Orthovoltage radiation and weekly low dose of doxorubicin for the treatment of incompletely excised soft-tissue sarcomas in 39 dogs. *Vet Rec.* 2007;160:321-6.
- Singh G, Triadafilopoulos G. Epidemiology of NSAID induced gastrointestinal complications. *J Scand Rheumatol.* 1999;56:18-24.
- Sonis ST. The Biologic Role For Nuclear Factor-KappaB In Disease And Its Potential Involvement In Mucosal Injury Associated With Anti-Neoplastic Therapy. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13:380-9.
- Sonis ST. The pathobiology of mucositis. *Nature Rev Canc.* 2004;4:277-84.
- Sonis ST. Pathobiology of oral mucositis: novel insights and opportunities. *J Support Oncol.* 2007;5:3-11.
- Sonis ST. Mucositis: The impact, biology and therapeutic opportunities of oral mucositis. *Oral Oncol.* 2009;45:1015-20.
- Sonis ST, Elting LS, Keefe D, Peterson DE, Schubert M, Hauer-Jensen M et al. Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury. *Cancer.* 2004a;100:1995-2025.
- Sonis ST, O'Donnell KE, Popat R, Bragdon C, Phelan S, Cocks D, Epstein JB. The relationship between mucosal cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and experimental radiation-induced mucositis. *Oral Oncol.* 2004b;40:170-6.
- Sonis S, Tracey C, Shklar G, Jenson J, Florine D. An animal model for mucositis induced by cancer chemotherapy. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol.* 1990;69:437-43.
- Spielberger R, Stiff P, Bensinger W, Gentile T, Weisdorf D, Kewalramani T et al. Palifermin for oral mucositis after intensive therapy for hematologic cancers. *New Engl J Med.* 2004;351:2590-8.
- Statistisches Bundesamt Wiesbaden. Todesursache 2011: Krebs immer häufiger. Hg. v. Statistisches Bundesamt Deutschland (zitiert vom 17.10.2013); Online verfügbar unter <<https://www.destatis.de>>.
- Steel GG, McMillan TJ, Peacock JH. The 5 Rs of radiobiology. *Int J Radiat Biol.* 1989;56:1045-8.
- Stewart FA, Dörr W. Milestones in normal tissue radiation biology over the past 50 years: From clonogenic cell survival to cytokine networks and back to stem cell recovery. *Int J Radiat Biol.* 2009;85:574-86.
- Stokman MA, Spijkervet FKL, Boezen HM, Schouten JP, Roodenburg JLN, De Vries EGE. Preventive Intervention Possibilities in Radiotherapy- and Chemotherapy-induced Oral Mucositis: Results of Meta-analyses. *J Dent Res.* 2006;85:690-700.
- Sun SC. Non-canonical NF- κ B signaling pathway. *Cell Res.* 2011;21:71-85.

- Tassani-Prell M. Bildgebende Verfahren in der Onkologie. In: Kessler M, Hrsg. Kleintieronkologie. 3. Aufl. Stuttgart: Parey; 2012. p. 61-79.
- Theon AP, Griffey S, Metzger L. Radiation therapy of carcinomas of the oral cavity in cats: Influence of tumor proliferation. *Vet Radiol & Ultrasound*. 1996;37:469.
- Theon AP, Rodriguez C, Griffey S, Madewell BR. Analysis of prognostic factors and patterns of failure in dogs with periodontal tumors treated with megavoltage irradiation. *J Am Vet Med Assoc*. 1997a;210:785-8.
- Theon AP, Rodriguez C, Madewell BR. Analysis of prognostic factors and patterns of failure in dogs with malignant oral tumors treated with megavoltage irradiation. *J Am Vet Med Assoc*. 1997b;210:778-84.
- Thrall DE. Orthovoltage radiotherapy of oral fibrosarcomas in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 1981;179:159-62.
- Thrall DE. Orthovoltage radiotherapy of acanthomatous epulides in 39 dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 1984;184:826-9.
- Treister N, Sonis ST. Mucositis: biology and management. *Curr Opin Otolaryngol & Head Neck Surg*. 2007;15:123-9.
- Tsai CJ, Hofstede TM, Sturgis EM, Garden AS, Lindberg ME, Wei Q et al. Osteoradionecrosis and Radiation Dose to the Mandible in Patients With Oropharyngeal Cancer. *Int J Radiat Onc Biol Phys*. 2013;85:415-20.
- Uehara T, Bennett B, Sakata ST, Satoh Y, Bilter GK, Westwick JK, Brenner DA. JNK mediates hepatic ischemia reperfusion injury. *J Hepatol*. 2005;42:850-9.
- Van der Schueren E, Van der Bogaert W, Vanuytsel L, Van Limbergen E. Radiotherapy by multiple fractions per day (MFD) in head and neck cancer: acute reactions of skin and mucosa. *Int J Radiat Onc Biol Phys*. 1990;19:301-11.
- Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*. 1998;38:97-120.
- Verdi CJ. Cancer therapy and oral mucositis. An appraisal of drug prophylaxis. *Drug Safety*. 1993;9:185-95.
- Viet CT, Corby PM, Akinwande A, Schmidt BL. Review of preclinical studies on treatment of mucositis and associated pain. *J Dent Res*. 2014;93:868-75.
- Wagner VP, Meurer L, Martins MAT, Danilevicz CK, Magnusson AS, Marques MM et al. Influence of different energy densities of laser phototherapy on oral wound healing. *J Biomed Optics*. 2013;18:1-7.
- Watanabe S, Suemaru K, Nakanishi M, Nakajima N, Tanaka M, Tanaka A, Araki H. Assessment of the hamster cheek pouch as a model for radiation-induced oral mucositis, and evaluation of the protective effects of keratinocyte growth factor using this model. *Int J Radiat Biol*. 2014;90:884-91.
- White RAS. *Kompandium der Onkologie in der Veterinärmedizin*. Hannover: Schlüter 1998.
- Withers HR. Cellular kinetics of intestinal mucosa after irradiation. In: Lett J und Adler H, Hrsg. *Advances in Radiation Biology*. Springfield: Charles Thomas Publication; 1970. p. 243-57.
- Withers HR. The four Rs of radiotherapy. In: Lett J und Adler H, Hrsg. *Advances in radiation biology*. 5. Aufl. New York: Academic Press; 1975. p. 241-71.
- Withers HR, Taylor JMG, Maciejewski B. The hazard of accelerated tumor clonogen repopulation during radiotherapy. *Acta Oncol*. 1988a;27:131-46.

Withers HR, Taylor JMG, Maciejewski B. Treatment volume and tissue tolerance. *Int J Radiat Onc Biol Phys.* 1988b;14:751-9.

Wittekind C, Meyer HJ. *TNM-Klassifikation maligner Tumoren.* 7. Aufl. Lörrach: Wiley-Vch Verlag GmbH; 2010.

Wittekind C, Oberschmid B. *TNM-Klassifikation maligner Tumoren.* *Der Pathologe.* 2010;31:333-8.

World Health Organisation (WHO) Geneva. *WHO Handbook for reporting results of cancer treatment;*48. Aufl.;1979. p. 1-45

Xu FX, Van der Schueren E, Ang KK. Acute reactions of the lip mucosa of mice to fractionated irradiations. *Radiother Oncol.* 1984;1:369-74.

Xu YD, Ou YK, Zheng YQ, Chen Y, Ji SF. The Treatment for Postirradiation Otitis Media With Effusion: A Study of Three Methods. *Laryngoscope.* 2008;118:2040-3.

Zhang X, Mosser DM. Macrophage activation by endogenous danger signals. *J Pathol.* 2008;214:161-78.

10. Anhang

10.1 Zellzahlen nach fraktionierter Bestrahlung

Tab. 13: Absolute Zellzahl pro mm Epithellänge und relative Zellzahl von Gesamtepithel, Germinativschicht und funktioneller Schicht an den Tagen 0-14. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht	
	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%
0	402 ± 11	100 ± 3	281 ± 8	100 ± 3	121 ± 4	100 ± 3
1	315 ± 14	78 ± 4	238 ± 10	85 ± 4	77 ± 7	64 ± 5
2	314 ± 6	78 ± 1	220 ± 6	78 ± 2	94 ± 4	78 ± 4
3	329 ± 5	82 ± 1	239 ± 7	85 ± 2	90 ± 5	74 ± 4
4	386 ± 42	96 ± 10	297 ± 36	106 ± 13	89 ± 8	73 ± 7
5	272 ± 16	68 ± 4	206 ± 10	73 ± 4	66 ± 6	55 ± 5
6	280 ± 8	70 ± 2	218 ± 8	78 ± 3	62 ± 4	51 ± 3
7	301 ± 12	75 ± 3	226 ± 8	80 ± 3	75 ± 6	62 ± 5
8	275 ± 8	68 ± 2	203 ± 7	72 ± 3	72 ± 3	60 ± 3
9	265 ± 7	66 ± 2	195 ± 6	69 ± 2	70 ± 3	58 ± 2
10	259 ± 13	64 ± 3	184 ± 10	66 ± 4	74 ± 3	61 ± 2
11	265 ± 10	66 ± 2	188 ± 8	67 ± 3	77 ± 3	63 ± 3
12	250 ± 12	62 ± 3	169 ± 11	60 ± 4	80 ± 7	66 ± 5
13	256 ± 10	64 ± 2	178 ± 10	63 ± 3	78 ± 3	64 ± 2
14	243 ± 6	60 ± 2	168 ± 4	60 ± 1	75 ± 3	62 ± 2

ANHANG

Tab. 14: Absolute Zellzahl pro mm Epithellänge relative Zellzahl von Gesamtepithel, Germinativschicht und funktioneller Schicht an den Tagen 0-14 mit Celecoxibbehandlung. Die Werte repräsentieren Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht	
	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%
0	402 ± 11	100 ± 3	281 ± 8	100 ± 3	121 ± 4	100 ± 3
1	288 ± 9	72 ± 2	211 ± 8	75 ± 3	77 ± 4	63 ± 3
2	334 ± 15	83 ± 4	235 ± 7	83 ± 2	99 ± 8	82 ± 6
3	300 ± 33	75 ± 8	213 ± 27	76 ± 10	88 ± 7	72 ± 6
4	267 ± 22	66 ± 6	190 ± 13	68 ± 5	77 ± 11	64 ± 9
5	318 ± 13	79 ± 3	213 ± 19	76 ± 7	104 ± 8	86 ± 7
6	242 ± 34	60 ± 9	182 ± 22	65 ± 8	60 ± 13	50 ± 10
7	217 ± 8	54 ± 2	163 ± 8	58 ± 3	54 ± 3	44 ± 2
8	221 ± 12	55 ± 3	164 ± 9	58 ± 3	57 ± 4	47 ± 3
9	228 ± 21	57 ± 5	155 ± 14	55 ± 5	73 ± 7	60 ± 5
10	214 ± 16	53 ± 4	147 ± 10	52 ± 4	67 ± 7	56 ± 6
11	235 ± 19	58 ± 5	163 ± 13	58 ± 5	72 ± 7	59 ± 5
12	220 ± 15	55 ± 4	148 ± 10	53 ± 4	72 ± 5	60 ± 4
13	255 ± 8	63 ± 2	172 ± 9	61 ± 3	83 ± 3	69 ± 3
14	289 ± 13	72 ± 3	195 ± 7	69 ± 3	94 ± 5	78 ± 4

10.2 Schichtdicken nach fraktionierter Bestrahlung

Tab. 15: Absolute und relative Dicke von Gesamtepithel, Germinativschicht, funktioneller Schicht und Keratinschicht an den Tagen 0-14. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht		Keratinschicht	
	µm, MW±SEM	%	µm, MW±SEM	%	µm, MW±SEM	%	µm, MW±SEM	%
0	68 ± 3	100 ± 5	15 ± 1	100 ± 8	38 ± 4	100 ± 10	15 ± 1	100 ± 5
1	65 ± 3	96 ± 4	16 ± 1	104 ± 9	36 ± 1	94 ± 3	14 ± 1	93 ± 7
2	71 ± 2	104 ± 3	12 ± 0	82 ± 2	44 ± 1	115 ± 3	15 ± 1	100 ± 7
3	77 ± 2	113 ± 4	15 ± 1	100 ± 3	46 ± 2	120 ± 4	16 ± 1	109 ± 6
4	72 ± 5	107 ± 8	13 ± 0	85 ± 3	44 ± 5	116 ± 12	16 ± 1	106 ± 8
5	60 ± 6	88 ± 9	10 ± 1	67 ± 5	34 ± 4	90 ± 10	15 ± 2	104 ± 13
6	65 ± 6	96 ± 8	13 ± 1	84 ± 6	37 ± 4	97 ± 10	16 ± 2	106 ± 10
7	67 ± 5	99 ± 7	14 ± 1	92 ± 6	36 ± 3	95 ± 8	17 ± 2	115 ± 11
8	62 ± 3	91 ± 5	12 ± 1	79 ± 5	36 ± 2	96 ± 6	14 ± 1	92 ± 8
9	62 ± 4	91 ± 6	14 ± 1	90 ± 8	34 ± 3	88 ± 7	14 ± 2	97 ± 10
10	61 ± 4	90 ± 5	14 ± 0	93 ± 2	33 ± 3	85 ± 8	15 ± 1	100 ± 6
11	65 ± 4	96 ± 6	14 ± 1	95 ± 5	37 ± 3	96 ± 8	14 ± 1	97 ± 6
12	56 ± 2	82 ± 3	14 ± 0	94 ± 3	29 ± 1	77 ± 2	12 ± 1	83 ± 8
13	63 ± 6	92 ± 9	16 ± 2	107 ± 11	32 ± 4	83 ± 10	15 ± 1	101 ± 7
14	65 ± 3	96 ± 5	14 ± 1	95 ± 4	35 ± 3	91 ± 9	16 ± 1	111 ± 5

ANHANG

Tab. 16: Absolute und relative Dicke von Gesamtepithel, Germinativschicht, funktioneller Schicht und Keratinschicht an den Tagen 0-14 mit Celecoxibbehandlung. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht		Keratinschicht	
	µm, MW±SEM	%	µm, MW±SEM	%	µm, MW±SEM	%	µm, MW±SEM	%
0	68 ± 3	100 ± 5	15 ± 1	100 ± 8	38 ± 4	100 ± 10	15 ± 1	100 ± 5
1	58 ± 5	86 ± 7	11 ± 1	75 ± 9	35 ± 3	93 ± 7	12 ± 1	79 ± 9
2	76 ± 3	111 ± 5	13 ± 1	84 ± 9	49 ± 3	128 ± 7	14 ± 1	96 ± 7
3	75 ± 1	111 ± 2	12 ± 1	79 ± 5	48 ± 1	127 ± 3	15 ± 1	100 ± 6
4	88 ± 6	129 ± 10	13 ± 1	84 ± 7	49 ± 3	129 ± 7	26 ± 6	177 ± 41
5	76 ± 2	112 ± 3	13 ± 1	88 ± 10	45 ± 1	118 ± 3	18 ± 1	124 ± 6
6	58 ± 4	86 ± 5	10 ± 1	69 ± 5	32 ± 1	83 ± 4	16 ± 2	111 ± 14
7	65 ± 2	95 ± 4	12 ± 1	82 ± 4	35 ± 2	93 ± 5	17 ± 1	113 ± 8
8	65 ± 2	95 ± 2	11 ± 0	72 ± 2	36 ± 3	95 ± 7	18 ± 2	119 ± 15
9	60 ± 3	89 ± 5	12 ± 1	80 ± 3	34 ± 2	89 ± 6	14 ± 1	96 ± 6
10	63 ± 6	93 ± 9	11 ± 1	73 ± 9	38 ± 5	99 ± 13	15 ± 1	100 ± 5
11	73 ± 3	107 ± 5	15 ± 0	103 ± 3	43 ± 3	113 ± 7	14 ± 1	95 ± 5
12	55 ± 3	81 ± 4	13 ± 1	83 ± 5	30 ± 2	79 ± 5	12 ± 1	81 ± 6
13	64 ± 4	94 ± 6	14 ± 2	95 ± 14	35 ± 2	91 ± 6	15 ± 0	101 ± 2
14	63 ± 4	92 ± 6	13 ± 1	88 ± 5	35 ± 3	91 ± 7	15 ± 1	99 ± 6

10.3 Immunhistochemisch gefärbte Zellen nach fraktionierter Bestrahlung

Tab. 17: Absolute Zellzahl pro mm Epithellänge und relative Zellzahl c-Jun-negativer Zellen von Gesamtepithel, Germinativschicht und funktioneller Schicht an den Tagen 0-14. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht	
	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%
0	92 ± 24	19 ± 6	65 ± 18	19 ± 6	27 ± 6	20 ± 5
1	41 ± 12	10 ± 2	27 ± 6	10 ± 2	14 ± 6	10 ± 4
2	55 ± 20	13 ± 4	38 ± 14	14 ± 5	16 ± 6	11 ± 4
3	28 ± 9	8 ± 2	24 ± 7	10 ± 3	4 ± 2	4 ± 2
4	21 ± 10	5 ± 2	16 ± 7	6 ± 2	5 ± 3	4 ± 2
5	14 ± 8	4 ± 2	8 ± 3	4 ± 2	6 ± 5	5 ± 4
6	18 ± 9	6 ± 3	15 ± 8	7 ± 4	3 ± 2	3 ± 2
7	17 ± 8	5 ± 2	10 ± 4	5 ± 2	6 ± 3	6 ± 3
8	17 ± 14	5 ± 4	12 ± 10	5 ± 4	5 ± 4	4 ± 3
9	30 ± 15	8 ± 5	20 ± 8	7 ± 4	10 ± 8	9 ± 6
10	12 ± 5	4 ± 2	8 ± 3	4 ± 2	4 ± 2	4 ± 2
11	40 ± 17	13 ± 5	26 ± 11	14 ± 5	14 ± 5	13 ± 5
12	9 ± 3	3 ± 1	5 ± 2	3 ± 1	4 ± 2	4 ± 2
13	4 ± 1	1 ± 0	3 ± 1	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
14	15 ± 11	4 ± 3	11 ± 8	5 ± 4	3 ± 2	3 ± 2

ANHANG

Tab. 18: Absolute Zellzahl pro mm Epithellänge und relative Zellzahl schwach c-Jun-positiv gefärbter Zellen von Gesamtepithel, Germinativschicht und funktioneller Schicht an den Tagen 0-14. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht	
	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%
0	232 ± 41	46 ± 7	197 ± 36	54 ± 8	35 ± 6	25 ± 4
1	108 ± 13	26 ± 4	84 ± 13	31 ± 4	24 ± 4	17 ± 4
2	113 ± 30	28 ± 7	82 ± 20	31 ± 7	31 ± 11	22 ± 8
3	117 ± 15	32 ± 3	87 ± 11	35 ± 3	31 ± 5	26 ± 4
4	78 ± 23	21 ± 5	66 ± 19	24 ± 6	12 ± 4	12 ± 4
5	47 ± 9	15 ± 3	41 ± 8	20 ± 5	7 ± 2	6 ± 2
6	63 ± 23	21 ± 8	48 ± 16	21 ± 8	15 ± 8	16 ± 8
7	63 ± 17	20 ± 5	48 ± 13	22 ± 6	16 ± 5	16 ± 5
8	67 ± 33	20 ± 9	48 ± 21	23 ± 9	19 ± 11	15 ± 9
9	75 ± 21	22 ± 6	57 ± 14	25 ± 7	19 ± 7	17 ± 6
10	53 ± 10	18 ± 4	38 ± 6	19 ± 3	15 ± 4	15 ± 4
11	104 ± 16	35 ± 6	72 ± 8	38 ± 5	32 ± 8	31 ± 9
12	53 ± 13	18 ± 5	39 ± 8	21 ± 6	14 ± 5	12 ± 5
13	32 ± 5	9 ± 2	23 ± 4	10 ± 1	8 ± 2	8 ± 2
14	49 ± 14	15 ± 3	36 ± 11	16 ± 5	14 ± 4	11 ± 2

ANHANG

Tab. 19: Absolute Zellzahl pro mm Epithellänge und relativen Zellzahl stark c-Jun-positiv gefärbter Zellen von Gesamtepithel, Germinativschicht und funktioneller Schicht an den Tagen 0-14. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht	
	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%
0	168 ± 18	35 ± 4	93 ± 10	27 ± 4	75 ± 9	55 ± 7
1	263 ± 24	64 ± 5	161 ± 13	60 ± 5	103 ± 11	73 ± 5
2	233 ± 36	59 ± 10	141 ± 25	55 ± 11	92 ± 11	67 ± 10
3	216 ± 19	60 ± 5	132 ± 13	55 ± 5	85 ± 7	71 ± 5
4	259 ± 23	74 ± 7	176 ± 18	70 ± 8	83 ± 5	84 ± 6
5	253 ± 23	80 ± 4	161 ± 17	76 ± 5	92 ± 6	89 ± 5
6	213 ± 27	73 ± 10	144 ± 21	70 ± 11	69 ± 10	80 ± 10
7	234 ± 22	75 ± 8	160 ± 17	74 ± 8	74 ± 6	78 ± 8
8	231 ± 40	75 ± 13	142 ± 27	72 ± 13	89 ± 14	81 ± 12
9	202 ± 29	70 ± 10	130 ± 20	68 ± 10	73 ± 10	74 ± 11
10	240 ± 23	78 ± 5	158 ± 12	77 ± 5	83 ± 11	81 ± 6
11	155 ± 30	51 ± 9	93 ± 17	48 ± 8	62 ± 14	56 ± 11
12	243 ± 26	79 ± 6	145 ± 17	76 ± 7	98 ± 9	84 ± 7
13	303 ± 21	89 ± 1	202 ± 15	88 ± 1	101 ± 8	91 ± 2
14	265 ± 13	81 ± 6	166 ± 15	78 ± 8	99 ± 4	86 ± 4

ANHANG

Tab. 20: Absolute Zellzahl pro mm Epithellänge und relative Zellzahl c-Jun-negativ gefärbter Zellen von Gesamtepithel, Germinativschicht und funktioneller Schicht an den Tagen 0-14 mit Celecoxibbehandlung. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht	
	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%
0	92 ± 24	19 ± 6	65 ± 18	19 ± 6	27 ± 6	20 ± 5
1	24 ± 11	6 ± 3	19 ± 8	7 ± 3	5 ± 2	4 ± 2
2	15 ± 6	4 ± 1	15 ± 6	5 ± 2	1 ± 0	1 ± 0
3	80 ± 51	18 ± 10	66 ± 43	20 ± 11	14 ± 8	12 ± 6
4	21 ± 9	5 ± 2	17 ± 7	7 ± 3	4 ± 1	3 ± 1
5	29 ± 19	9 ± 5	25 ± 15	11 ± 6	5 ± 3	4 ± 3
6	16 ± 6	5 ± 2	14 ± 5	7 ± 3	2 ± 1	2 ± 1
7	15 ± 7	5 ± 2	12 ± 5	6 ± 3	3 ± 2	3 ± 2
8	18 ± 7	5 ± 2	12 ± 4	6 ± 2	6 ± 3	5 ± 2
9	12 ± 4	4 ± 2	9 ± 4	5 ± 2	3 ± 1	3 ± 1
10	27 ± 1	8 ± 1	18 ± 3	8 ± 1	10 ± 3	9 ± 3
11	31 ± 18	9 ± 5	25 ± 15	12 ± 7	6 ± 3	5 ± 2
12	8 ± 3	3 ± 1	5 ± 2	3 ± 1	3 ± 1	3 ± 1
13	11 ± 6	4 ± 2	8 ± 5	4 ± 2	3 ± 2	3 ± 1
14	4 ± 3	1 ± 1	3 ± 2	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1

ANHANG

Tab. 21: Absolute Zellzahl pro mm Epithellänge und relative Zellzahl schwach c-Jun-positiv gefärbter Zellen von Gesamtepithel, Germinativschicht und funktioneller Schicht an den Tagen 0-14 mit Celecoxibbehandlung. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht	
	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%
0	232 ± 41	46 ± 7	197 ± 36	54 ± 8	35 ± 6	25 ± 4
1	103 ± 9	26 ± 2	86 ± 8	32 ± 3	17 ± 3	13 ± 2
2	150 ± 35	37 ± 8	127 ± 27	46 ± 8	23 ± 9	18 ± 7
3	118 ± 16	32 ± 3	93 ± 13	36 ± 5	26 ± 5	23 ± 5
4	92 ± 17	25 ± 4	72 ± 17	29 ± 6	20 ± 5	16 ± 3
5	95 ± 13	31 ± 3	75 ± 13	36 ± 3	20 ± 4	21 ± 4
6	90 ± 19	29 ± 6	77 ± 15	36 ± 8	13 ± 4	13 ± 4
7	80 ± 24	26 ± 8	65 ± 16	31 ± 10	15 ± 9	14 ± 8
8	88 ± 15	27 ± 5	72 ± 13	34 ± 7	16 ± 4	14 ± 3
9	93 ± 19	32 ± 6	78 ± 17	40 ± 9	15 ± 2	15 ± 3
10	106 ± 27	32 ± 9	81 ± 20	37 ± 10	25 ± 7	23 ± 7
11	88 ± 24	28 ± 6	63 ± 18	31 ± 7	25 ± 6	24 ± 4
12	89 ± 23	31 ± 7	75 ± 21	38 ± 9	15 ± 2	16 ± 3
13	76 ± 5	26 ± 3	61 ± 1	32 ± 2	15 ± 6	14 ± 5
14	34 ± 15	10 ± 4	25 ± 8	11 ± 3	9 ± 7	8 ± 5

ANHANG

Tab. 22: Absolute Zellzahl pro mm Epithellänge und relative Zellzahl stark c-Jun-positiv gefärbter Zellen von Gesamtepithel, Germinativschicht und funktioneller Schicht an den Tagen 0-14 mit Celecoxibbehandlung. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht	
	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%
0	168 ± 18	35 ± 4	93 ± 10	27 ± 4	75 ± 9	55 ± 7
1	275 ± 14	69 ± 4	164 ± 8	61 ± 4	111 ± 8	83 ± 4
2	241 ± 41	59 ± 9	135 ± 28	49 ± 10	106 ± 13	81 ± 8
3	180 ± 43	50 ± 11	106 ± 33	43 ± 11	74 ± 12	66 ± 10
4	257 ± 22	70 ± 6	158 ± 23	64 ± 8	99 ± 7	81 ± 3
5	180 ± 13	60 ± 6	106 ± 11	53 ± 8	74 ± 5	75 ± 3
6	207 ± 28	66 ± 8	125 ± 25	57 ± 10	82 ± 5	85 ± 4
7	224 ± 40	70 ± 11	138 ± 31	63 ± 12	86 ± 11	83 ± 10
8	220 ± 20	67 ± 5	132 ± 18	61 ± 7	88 ± 4	81 ± 5
9	190 ± 24	64 ± 8	108 ± 21	55 ± 10	82 ± 6	82 ± 3
10	199 ± 32	59 ± 9	121 ± 25	55 ± 11	78 ± 8	69 ± 6
11	182 ± 26	63 ± 11	111 ± 24	58 ± 13	70 ± 8	71 ± 6
12	192 ± 21	66 ± 7	113 ± 14	59 ± 8	79 ± 8	81 ± 3
13	212 ± 18	71 ± 4	123 ± 11	64 ± 3	89 ± 9	83 ± 6
14	300 ± 5	89 ± 4	195 ± 1	88 ± 4	105 ± 4	91 ± 6

Tab. 23: Absolute Zellzahl pro mm Epithellänge und relative Zellzahl NF-κB p50-negativ gefärbter Zellen von Gesamtepithel, Germinativschicht und funktioneller Schicht an den Tagen 0-14. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht	
	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%
0	94 ± 22	21 ± 5	49 ± 13	15 ± 4	45 ± 12	34 ± 9
1	79 ± 8	18 ± 2	43 ± 2	14 ± 1	36 ± 8	26 ± 7
2	56 ± 15	14 ± 4	23 ± 11	8 ± 4	33 ± 6	27 ± 5
3	18 ± 4	5 ± 1	10 ± 3	4 ± 1	8 ± 2	7 ± 2
4	18 ± 7	5 ± 2	6 ± 2	3 ± 1	11 ± 5	11 ± 5
5	24 ± 9	7 ± 3	10 ± 3	5 ± 1	13 ± 7	11 ± 6
6	30 ± 7	9 ± 2	15 ± 2	6 ± 1	15 ± 5	16 ± 5
7	17 ± 3	5 ± 1	8 ± 1	3 ± 1	9 ± 2	9 ± 2
8	17 ± 4	5 ± 1	7 ± 2	3 ± 1	11 ± 3	9 ± 3
9	12 ± 6	4 ± 2	3 ± 1	1 ± 1	9 ± 5	8 ± 5
10	22 ± 5	7 ± 2	9 ± 2	4 ± 1	14 ± 4	12 ± 4
11	18 ± 6	5 ± 2	7 ± 4	3 ± 2	11 ± 3	11 ± 3
12	19 ± 3	7 ± 1	4 ± 1	2 ± 1	15 ± 2	14 ± 2
13	31 ± 9	9 ± 2	6 ± 2	3 ± 1	25 ± 8	21 ± 6
14	22 ± 7	6 ± 2	9 ± 4	4 ± 2	13 ± 3	11 ± 3

ANHANG

Tab. 24: Absolute Zellzahl pro mm Epithellänge und relative Zellzahl schwach NF-κB p50-positiv gefärbter Zellen von Gesamtepithel, Germinativschicht und funktioneller Schicht an den Tagen 0-14. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht	
	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%
0	163 ± 18	35 ± 3	122 ± 14	37 ± 4	41 ± 4	31 ± 1
1	153 ± 15	35 ± 4	105 ± 13	36 ± 5	48 ± 3	35 ± 3
2	116 ± 16	31 ± 5	67 ± 14	26 ± 5	49 ± 4	40 ± 4
3	107 ± 11	28 ± 3	68 ± 7	26 ± 3	39 ± 5	33 ± 4
4	112 ± 25	32 ± 9	68 ± 19	28 ± 10	44 ± 6	40 ± 7
5	81 ± 12	24 ± 3	49 ± 9	22 ± 3	32 ± 5	29 ± 4
6	89 ± 15	28 ± 5	61 ± 10	26 ± 5	28 ± 5	31 ± 6
7	85 ± 17	24 ± 5	52 ± 12	20 ± 4	33 ± 7	33 ± 7
8	65 ± 10	20 ± 3	36 ± 6	17 ± 3	29 ± 5	25 ± 4
9	56 ± 7	17 ± 2	28 ± 3	13 ± 1	28 ± 4	27 ± 4
10	71 ± 7	21 ± 2	40 ± 4	18 ± 2	31 ± 4	26 ± 4
11	66 ± 11	20 ± 3	34 ± 8	15 ± 3	32 ± 3	31 ± 3
12	62 ± 7	21 ± 3	24 ± 6	14 ± 4	38 ± 5	34 ± 4
13	82 ± 6	24 ± 1	38 ± 8	16 ± 3	44 ± 4	40 ± 7
14	99 ± 13	27 ± 4	55 ± 11	24 ± 5	44 ± 3	34 ± 3

ANHANG

Tab. 25: Absolute Zellzahl pro mm Epithellänge und relative Zellzahl stark NF-κB p50-positiv gefärbter Zellen von Gesamtepithel, Germinativschicht und funktioneller Schicht an den Tagen 0-14. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht	
	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%
0	202 ± 39	44 ± 8	157 ± 28	47 ± 8	45 ± 13	35 ± 11
1	203 ± 29	46 ± 6	150 ± 20	50 ± 6	53 ± 10	39 ± 7
2	214 ± 30	55 ± 7	173 ± 23	66 ± 8	41 ± 8	33 ± 6
3	256 ± 12	67 ± 3	186 ± 10	70 ± 3	70 ± 5	60 ± 4
4	240 ± 46	63 ± 11	183 ± 34	69 ± 11	57 ± 16	49 ± 12
5	225 ± 11	69 ± 5	160 ± 3	74 ± 3	65 ± 9	60 ± 9
6	208 ± 28	63 ± 7	160 ± 18	67 ± 6	48 ± 10	53 ± 11
7	254 ± 25	71 ± 6	198 ± 19	76 ± 5	56 ± 7	58 ± 9
8	246 ± 15	75 ± 4	170 ± 8	80 ± 3	76 ± 10	65 ± 7
9	255 ± 12	79 ± 4	189 ± 7	86 ± 2	66 ± 9	64 ± 8
10	246 ± 18	72 ± 3	174 ± 10	78 ± 3	72 ± 8	62 ± 6
11	248 ± 15	75 ± 5	187 ± 11	82 ± 5	61 ± 7	58 ± 6
12	211 ± 17	72 ± 3	153 ± 14	84 ± 4	59 ± 7	52 ± 6
13	228 ± 14	67 ± 3	181 ± 14	81 ± 4	47 ± 12	39 ± 9
14	246 ± 39	66 ± 6	171 ± 24	72 ± 7	75 ± 16	55 ± 6

ANHANG

Tab. 26: Absolute Zellzahl pro mm Epithellänge und relative Zellzahl NF-κB p50-negativ gefärbter Zellen von Gesamtepithel, Germinativschicht und funktioneller Schicht an den Tagen 0-14 mit Celecoxibbehandlung. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht	
	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%
0	94 ± 22	21 ± 5	49 ± 13	15 ± 4	45 ± 12	34 ± 9
1	51 ± 20	12 ± 5	27 ± 10	9 ± 4	25 ± 10	19 ± 8
2	30 ± 10	8 ± 3	11 ± 3	4 ± 1	19 ± 8	14 ± 6
3	34 ± 12	9 ± 3	9 ± 4	3 ± 1	25 ± 9	20 ± 7
4	12 ± 4	3 ± 1	7 ± 2	2 ± 1	6 ± 2	5 ± 2
5	15 ± 6	4 ± 2	3 ± 1	2 ± 1	12 ± 6	11 ± 6
6	28 ± 11	9 ± 4	16 ± 5	7 ± 3	12 ± 7	13 ± 6
7	9 ± 2	3 ± 1	4 ± 1	2 ± 1	5 ± 1	6 ± 2
8	63 ± 18	18 ± 4	27 ± 13	10 ± 4	36 ± 6	35 ± 5
9	17 ± 5	5 ± 2	6 ± 3	3 ± 1	11 ± 3	10 ± 3
10	12 ± 6	4 ± 2	4 ± 2	2 ± 1	8 ± 4	7 ± 4
11	20 ± 11	6 ± 3	9 ± 6	4 ± 2	11 ± 6	11 ± 5
12	17 ± 8	5 ± 3	6 ± 2	2 ± 1	12 ± 7	10 ± 6
13	48 ± 9	15 ± 2	12 ± 4	6 ± 2	36 ± 7	35 ± 4
14	29 ± 20	9 ± 6	9 ± 3	4 ± 2	20 ± 17	17 ± 14

Tab. 27: Absolute Zellzahl pro mm Epithellänge und relative Zellzahl schwach NF-κB p50-positiv gefärbter Zellen von Gesamtepithel, Germinativschicht und funktioneller Schicht an den Tagen 0-14 mit Celecoxibbehandlung. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) ± SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht	
	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%	Zellzahl/mm MW±SEM	%
0	163 ± 18	35 ± 3	122 ± 14	37 ± 4	41 ± 4	31 ± 2
1	124 ± 13	29 ± 3	88 ± 11	29 ± 4	36 ± 3	27 ± 2
2	112 ± 14	27 ± 5	69 ± 14	26 ± 7	43 ± 1	32 ± 2
3	122 ± 19	31 ± 3	78 ± 15	29 ± 4	44 ± 5	37 ± 3
4	74 ± 22	19 ± 5	40 ± 10	15 ± 3	35 ± 12	30 ± 10
5	46 ± 13	14 ± 4	24 ± 5	11 ± 3	22 ± 8	22 ± 8
6	73 ± 12	23 ± 4	51 ± 11	23 ± 5	22 ± 4	24 ± 3
7	55 ± 3	17 ± 1	24 ± 4	11 ± 2	31 ± 4	34 ± 5
8	94 ± 7	28 ± 1	64 ± 8	27 ± 2	30 ± 4	30 ± 4
9	59 ± 11	17 ± 3	28 ± 9	12 ± 4	31 ± 3	28 ± 2
10	68 ± 13	19 ± 4	37 ± 8	16 ± 4	31 ± 6	27 ± 5
11	87 ± 15	27 ± 4	50 ± 11	23 ± 5	37 ± 6	37 ± 5
12	58 ± 7	17 ± 3	31 ± 6	13 ± 3	27 ± 2	23 ± 2
13	88 ± 5	29 ± 2	41 ± 6	20 ± 4	47 ± 2	46 ± 2
14	84 ± 19	24 ± 7	49 ± 12	22 ± 8	35 ± 6	29 ± 6

Tab. 28: Absolute Zellzahl pro mm Epithellänge und relative Zellzahl stark NF- κ B p50-positiv gefärbter Zellen von Gesamtepithel, Germinativschicht und funktioneller Schicht an den Tagen 0-14 mit Celecoxibbehandlung. Die Werte repräsentieren die Mittelwerte (n=5) \pm SEM.

Tag	Gesamtepithel		Germinativschicht		Funktionelle Schicht	
	Zellzahl/mm MW \pm SEM	%	Zellzahl/mm MW \pm SEM	%	Zellzahl/mm MW \pm SEM	%
0	202 \pm 39	44 \pm 8	157 \pm 28	47 \pm 8	45 \pm 13	35 \pm 11
1	258 \pm 37	59 \pm 7	188 \pm 24	62 \pm 7	70 \pm 14	54 \pm 9
2	280 \pm 42	65 \pm 8	205 \pm 32	70 \pm 8	75 \pm 11	54 \pm 7
3	226 \pm 26	60 \pm 6	178 \pm 23	67 \pm 5	48 \pm 7	43 \pm 9
4	294 \pm 14	78 \pm 6	220 \pm 3	83 \pm 4	73 \pm 12	65 \pm 12
5	264 \pm 27	81 \pm 6	201 \pm 23	88 \pm 3	63 \pm 10	67 \pm 13
6	217 \pm 26	68 \pm 7	159 \pm 22	70 \pm 8	58 \pm 6	64 \pm 9
7	261 \pm 12	80 \pm 2	204 \pm 7	88 \pm 2	57 \pm 7	61 \pm 6
8	184 \pm 8	55 \pm 4	148 \pm 13	63 \pm 6	36 \pm 6	36 \pm 6
9	260 \pm 21	77 \pm 5	192 \pm 15	85 \pm 5	68 \pm 6	62 \pm 4
10	277 \pm 28	77 \pm 6	202 \pm 17	83 \pm 4	75 \pm 12	66 \pm 9
11	213 \pm 23	67 \pm 7	160 \pm 16	73 \pm 7	52 \pm 8	53 \pm 9
12	283 \pm 30	78 \pm 5	201 \pm 21	84 \pm 4	81 \pm 12	67 \pm 8
13	174 \pm 20	56 \pm 4	155 \pm 22	74 \pm 6	19 \pm 2	19 \pm 3
14	236 \pm 63	67 \pm 13	171 \pm 38	74 \pm 9	65 \pm 25	54 \pm 20

11. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. W. Dörr für die Überlassung des Themas sowie die allzeitige Hilfsbereitschaft und umfangreiche Unterstützung während der Anfertigung meiner Arbeit.

Der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus der Technischen Universität Dresden danke ich für die Erlaubnis zur Nutzung der Einrichtungen.

Gleichzeitig danke ich allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Normalgewebsbiologie, insbesondere Frau Schmidt und Frau Stolz-Kieslich, für die Unterstützung bei der Vorbereitung und Durchführung des experimentellen Teils der Arbeit.

Ein ganz besonderer Dank geht auch an meine Eltern, die mir das Tiermedizinstudium ermöglicht und mich auf allen Wegen jederzeit unterstützt haben.

Umfangreicher Dank gilt auch meinem Mann für die alltägliche Unterstützung.