Bundesministerium
für Umwelt, Naturschutz
und Reaktorsicherheit

SCHRIFTENREIHE REAKTORSICHERHEIT UND STRAHLENSCHUTZ

MULTIPARAMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN AN STRAHLEN-THERAPIEPATIENTEN MIT AUFFÄLLIGEN STRAHLENREAKTIONEN

BMU - 2005-662

ENERGIE
WIR STEUERN UM AUF ERNEUERBARE ENERGIEN.

BMU – 2005-662

„Multiparametrische Untersuchungen an Strahlentherapiepatienten mit auffälligen Strahlenreaktionen“

Frau Dr. med. Riesenbeck

Universität Münster

Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie

48129 Münster

IMPRESSUM

Dieser Band enthält einen Abschlussbericht über ein vom Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (BMU) gefördertes Vorhaben. Verantwortlich für den Inhalt sind allein die Autoren. Das BMU übernimmt keine Gewähr für die Richtigkeit, die Genauigkeit und Vollständigkeit der Angaben sowie die Beachtung privater Rechte Dritter. Der Eigentümer behält sich alle Rechte an der weiteren Nutzung oder Vervielfältigung des Berichts vor.

Der Bericht gibt die Auffassung und Meinung des Auftragnehmers wieder und muss nicht mit der des BMU übereinstimmen.

Herausgeber:

Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit
Referat RS I 2
Postfach 12 06 29
53048 Bonn

Erscheinungsjahr: 2005

Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Universitätsklinikum (UKM)
Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie – Radioonkologie –
Direktor: Prof. Dr. med. N. Willich

Multiparametrische Untersuchungen an Strahlentherapiepatienten mit auffälligen Strahlenreaktionen

Abschlussbericht

Abschlussdatum: 31.07.04
Auftragsnummer: St.Sch. 4362
Autorin: Dr. med. D. Riesenbeck

Dieser Bericht ist von der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie –Radioonkologie – des UKM im Auftrag des Bundesministers für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit im Rahmen des Vorhabens St.Sch. 4362 erstellt worden. Die Verantwortung für den Inhalt liegt jedoch allein bei den Autoren. Der Eigentümer behält sich alle Rechte vor. Insbesondere darf dieser Bericht nur mit Zustimmung des Auftraggebers zitiert, ganz oder teilweise vervielfältigt bzw. Dritten zugänglich gemacht werden.

Dieser Bericht gibt die Meinung und Auffassung des Auftragnehmers wieder und muss nicht mit der Meinung des auftraggebenden Bundesministers für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit übereinstimmen.

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung 6

Deutsche und Englische Version 6

Teil I: Kurze Darstellung der Vorgaben

1 Aufgabenstellung 7
1.1 Übergeordnete Zielsetzung 7
1.2 Einzelzielsetzungen 8
1.2.1 Biologische Charakterisierung der Strahlenempfindlichkeit einer definierten Patientengruppe 8
1.2.2 Analyse klinischer Einflussfaktoren auf biologische und klinische Endpunkte 9
1.2.3 Detaillierte statistische Analyse und Erprobung neuer Methoden bei der Bewertung der prädiktiven Wertigkeit 9
1.2.4 Detaillierte Betrachtung der klinischen Strahlenreaktion 9
1.2.5 Evaluation eines zusätzlichen prädiktiven Parameters innerhalb der Infrastruktur des Projekts 10

2 Voraussetzungen für die Durchführung 10

3 Planung und Ablauf der Untersuchungen 10
3.1 Planung 10
3.1.1 Klinischer Teil 11
3.1.1.1 Patientenkollektiv 11
3.1.1.2 Planung und Strukturierung allgemeiner klinischer Abläufe 11
3.1.1.3 Klassifikation und Dokumentation der Nebenwirkungen 12
3.1.2 Theoretische Grundlagen des experimentellen Teils und des Methodenspektrums 12
3.2 Ablauf 13
3.2.1 Klinischer Teil 13
3.2.2 Untersuchungen im strahlenbiologischen Labor 15
3.2.2.1 Organisatorischer Ablauf und fehlende Werte 15
3.2.2.2 Theoretische Überlegungen und Durchführung der einzelnen Analysen 15
3.2.2.2.1 Mikronukleusmessung 15
3.2.2.2.2 Zellzyklusphasenprogression 17
3.2.2.2.3 Antioxidative Kapazität 19
3.2.2.2.4 Apoptose 20
3.2.3 Untersuchungen im humangenetischen Labor 21
3.2.3.1 Organisatorischer Ablauf 21
3.2.3.2 Durchführung der Analysen 21

4 Wissenschaftlicher und technischer Stand 23
4.1 Wissensstand zu prädiktiven Analysen an Lymphozyten zum Zeitpunkt der Projektplanung 23
4.2 Bekannte Konstruktionen, Verfahren und Schutzrechte 24
4.3 verwendete Fachliteratur, Informationsdienste, Dokumentationsdienste 24

5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen 25

Teil II: Eingehende Darstellung der Ergebnisse

1 Erzielte Ergebnisse 25
1.1 Ergebnisse der Patienten im Screening 25
1.1.1 Basisstatistik 25
1.1.1.1 Basisstatistik im Gesamtkollektiv 25
1.1.1.2 Ergänzende Angaben zu den Patienten mit Brustbestrahlung 26
1.1.1.3 Ergänzende Angaben zu den Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung 27
1.1.2 Ausprägung der Nebenwirkungen 29
1.1.2.1 Nebenwirkungen der Brustbestrahlung 29
1.1.2.1.1 Akut 29
1.1.2.1.2 Spät 30
1.1.2.2 Nebenwirkungen der Brustbestrahlung 31
1.1.2.2.1 Akut 31
1.1.2.2.2 Spät 32
1.1.2.3 Zusammenfassung der Nebenwirkungsinzidenz 33
1.1.3 Einflussfaktoren auf die Ausprägung akuter Nebenwirkungen 34
1.1.3.1 Bei der Brustbestrahlung 34
1.1.3.2 Bei der Mundhöhlenbestrahlung 36
1.1.3.3 Zusammenfassung: Einflussfaktoren für die Akutreaktion 37

1.2 Ergebnisse der Patienten mit MN-direkt Messung 37
1.2.1 Basisstatistik 37
1.2.1.1 Basisstatistik des Kollektivs mit MN-direkt Messung 38
1.2.1.2 Ergänzende Angaben zu den Patienten mit Brustbestrahlung 39
1.2.1.3 Ergänzende Angaben zu den Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung 39
1.2.2 Ausprägung der Nebenwirkungen 40
1.2.2.1 Nebenwirkungen der Brustbestrahlung 40
1.2.2.1.1 Akut 40
1.2.2.1.2 Spät 41
1.2.2.2 Nebenwirkungen der Mundhöhlenbestrahlung 41
1.2.2.2.1 Akut 41
1.2.2.2.2 Spät 41
1.2.2.2.3 Zusammenfassung der Nebenwirkungsinzidenz 41
1.2.3 Beeinflussung der Mikronukleuswerte durch klinische Faktoren 41
1.2.3.1 Gesamtgruppe der Patienten mit MN-direkt 42
1.2.3.2 Patientinnen mit Brustbestrahlung 42
1.2.3.3 Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung 42
1.2.3.4 Zusammenfassung 43
1.2.4 Korrelation von Mikronukleuswerten und Nebenwirkungen 43
1.2.4.1 Akute Nebenwirkungen der Brustbestrahlung 43
1.2.4.2 Späte Nebenwirkungen der Brustbestrahlung 43
1.2.4.3 Akute Nebenwirkungen der Mundhöhlenbestrahlung 44
1.2.4.4 Späte Nebenwirkungen der Mundhöhlenbestrahlung 44
1.2.4.5 Zusammenfassende Beurteilung 45

1.3 Ergebnisse der 60 Patienten (empfindlich und gematcht) 46
1.3.1 Basisstatistik 46
1.3.1.1 Basisstatistik Gesamtkollektiv 46
1.3.1.2 Basisstatistik nach Tumorentität 47
1.3.1.3 Ergänzende Angaben zu den Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung 48
1.3.1.4 Ergänzende Angaben zu den Patienten mit Brustbestrahlung 48

1.3.2 Matching 49
1.3.2.1 Matching-Tabellen für Patientinnen mit Brustbestrahlung 50
1.3.2.2 Matching-Tabellen für Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung 53

1.3.3 Ausprägung der Nebenwirkungen im Vergleich Empfindlich/Unempfindlich 54
1.3.3.1 Akute Nebenwirkungen der Brustbestrahlung 55
1.3.3.2 Akute Nebenwirkungen der Mundhöhlenbestrahlung 55
1.3.3.3 Zusammenfassende Beurteilung 56

1.3.4 Strahlenbiologische Charakterisierung der 60 Patienten 57
1.3.4.1 Dizentrische Chromosomen 57
1.3.4.2 Fragmente 58
1.3.4.3 Translokationen 59
1.3.4.4 Tetraploide 60
1.3.4.5 Summe aller Bruchereignisse und Bruchereignisse pro Zelle 60
1.3.4.6 Mikronuklei 62
1.3.4.7 Antioxidative Kapazität 63
1.3.4.8 Quenching 64
1.3.4.9 Apoptose 65
1.3.4.10 MN vor Radiotherapie (Subgruppe) 66
1.3.4.11 Zusammenfassung 66

1.3.5 Einfluss klinischer Parameter auf die Ausprägung biologischer Messwerte 66
1.3.5.1 Dizentrische Chromosomen 67
1.3.5.2 Fragmente 69
1.3.5.3 Translokationen 70
1.3.5.4 Tetraploide 71
1.3.5.5 Summe aller Bruchereignisse und Bruchereignisse pro Zelle 71
1.3.5.6 Mikronuklei 72
1.3.5.7 Antioxidative Kapazität 73
1.3.5.8 Quenching 77
1.3.5.9 Apoptose 77
1.3.5.10 MN vor Radiotherapie (Subgruppe) 77
1.3.5.11 Zusammenfassung 77

1.3.6 Vergleich der untersuchten Parameter zwischen den empfindlichen Patienten und den gematchten unempfindlichen Patienten 79
1.3.6.1 Dizentrische Chromosomen 79
1.3.6.2 Fragmente 81
1.3.6.3 Translokationen 82
1.3.6.4 Tetraploide 84
1.3.6.5 Summe aller Bruchereignisse und Bruchereignisse pro Zelle 84
1.3.6.6 Mikronuklei 86
1.3.6.7 Antioxidative Kapazität 88
1.3.6.8 Quenching 89
1.3.6.9 Apoptose 91
1.3.6.10 MN vor Radiotherapie 92
1.3.6.11 Zusammenfassung der signifikanten Ergebnisse 93
1.3.6.12 Korrelation der Parameter untereinander 93
1.3.6.13 Zusammenfassung 95

1.3.7 Logistische Regression der Parameter 96
1.3.7.1 Methodik 96
1.3.7.2 Ergebnisse 96

1.3.8 Zusammenfassung aller Ergebnisse dieses Kapitels 97

2 Voraussichtlicher Nutzen im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans 97

3 Fortschritt an anderen Stellen während der Durchführung des Vorhabens 99
3.1 Dizentrische Chromosomen 99
3.2 Andere Methoden zur Messung chromosomaler Defekte 99
3.3 Apoptosemessung 100
3.4 Publikationen zu Methodenkritik und Übersichtsarbeiten 100

4 Erfolgte und geplante Veröffentlichung 100

5 Literaturverzeichnis 101

Teil III: Erfolgskontrollbericht 107

1 Beitrag zu den förderpolitischen Zielen des Schwerpunktes 107

2 Fortschreibung des Verwertungsplans 107

3 Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben 107

4 Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer 107

5 Einhaltung des Ausgaben- und Zeitplanes 107

Anlage 1: Erhebungsbogen für Basisdaten 108

Anlage 2: Dokumentation der Akuttoxizität 111

Anlage 3: Einwilligungsbogen 115

Anlage 4: Pflegehinweise (getrennt nach Tumorentitäten) 116

Anlage 5: Bisherige Publikation der Daten auf wissenschaftlichen Kongressen 118

Kurzfassung

Durch die intensive Patientenbeobachtung im Rahmen des Projektes konnten viele Erkenntnisse über die Inzidenz und Einflussfaktoren klinischer Reaktionen gesammelt werden. Dazu gehört, dass bei Bestrahlung der Brust insgesamt ca. 6% der Patientinnen akute III°/IV° Reaktionen hatten und 0,5% ausgeprägte Spätnebenwirkungen. Bei Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich sind dies 50% der Patienten akut und 19% spät.
Klinische Einflussfaktoren für die erhobenen Messwerte im Labor finden sich nicht. Bei Untersuchung des Zusammenhangs von biologischem Parameter und klinischer Beurteilung der Strahlenempfindlichkeit zeigen sich konsistent die Parameter der direkten Chromosomenbruchanalyse in der unbestrahlten Probe als signifikant: dizentrische Chromosomen und azentrische Fragmente, Summe aller Bruchereignisse und Brüche pro Zelle. Dieser Unterschied findet sich auch, wenn nur die ersten 50 ausgezählten Zellen berücksichtigt werden. In der logistischen Regression ist nur noch die Rate dizentrischer Chromosomen signifikant. Dabei geht eine Sensitivität von 70% mit einer Spezifität von ebenfalls ca. 70% einher. Somit ist zwar eine Korrelation gegeben, der mit diesem Modell berechnete Vorhersagewert ist aber gering.

Summary
Intensified documentation of side effects in this group of patients revealed some information on incidence and clinical factors influencing clinical normal tissue reaction. One of these is the fact that only 6% of patients with irradiation for breast cancer have severe acute side effects and about 0.5% have severe late effects. For patients with head and neck-Cancer the numbers are 50% and 19%.
Clinical factors influencing laboratory results have not been found. Correlation of clinical results and biological testing revealed aspects of chromosomal fragmentation (dicentric chromosomes and acentric fragments, sum of all breaks and number of breaks per cell. This difference is still significant when only the first 50 cells are evaluated. In logistic regression analysis, the only parameter remaining significant is the number of dicentrics in the unirradiated probe. This analysis shows a sensitivity of 70% and a specifity of 70% for dicentrics. Overall, a statistical correlation can be found but the predictive value of the assay is too low.

Teil I Kurze Darstellung der Vorgaben

1. Aufgabenstellung

1.1 Übergeordnete Zielsetzung

Bei der Strahlentherapie von Patienten mit bösartigen Erkrankungen zeigt ein Teil der Patienten besonders frühe und/oder besonders schwere Nebenwirkungen an den bestrahlten Normalgeweben. Dies ist zum Teil durch äußere Einflussfaktoren bestimmt (so zum Beispiel an der Mundschleimhaut durch exogene Noxen wie Rauchen, Alkohol, scharfe Speisen, exzessive Pflege), zum Teil erkrankungsbedingt (vorbestehende Organerkrankung, Diabetes, Anämie) (Baumann, 1995). Es verbleibt ein Anteil von 5-10% der Patienten, bei denen eine erhöhte Strahlenempfindlichkeit ohne erkennbare Ursache vorliegt.

Bei Untersuchung von Proben klinisch auffälliger Patienten unter Strahlentherapie zeigen verschiedene Tests an Lymphozyten (Mikronukleusassay, Apoptoseinduktion, Zellzyklusphasenprogression) eine erhöhte Strahlenempfindlichkeit an (Budach, 1998), so dass ein prädiktiver Wert postuliert wurde. Die Beurteilung der in-vitro Strahlenempfindlichkeit nach einer Giemsa-Färbung über die Auszählung der chromosomalen Veränderungen (Dizentrics, Brüche, Ringchromosomen etc.) ist seit langem etabliert (z.B. Jones et al., 1995) und wurde in der jüngeren Vergangenheit durch neue, spezifischere Färbetechniken (FISH) ergänzt (z.B. Dunst et al., 1998 oder Huber et al., 1999). Bisher konnte jedoch noch nicht bewiesen werden, dass die genannten Tests eine Vorhersage über die Schwere der erwarteten Nebenwirkungen erlauben, so dass sie in der heutigen Form keine klinische Relevanz besitzen (Barber et al., 2000).

Hierfür gibt es verschiedene Erklärungsansätze. Zum einen gibt es möglicherweise eine Abhängigkeit des Vorhersagewertes bezogen auf den jeweils gewählten Endpunkt (wenn die Zielzellen der Bestrahlungsnebenwirkung anders reagieren als die Lymphozyten, [Dörr 1998]), zum anderen muss eine ausreichende Zahl von normal reagierenden und strahlenempfindlichen Patienten erfasst werden. Weiterhin ist die systematische, detailgenaue und objektive Dokumentation klinischer Nebenwirkungen schwieriger als zunächst angenommen und Quelle zahlreicher systematischer Fehlermöglichkeiten (Riesenbeck, 1998). Ein weiteres Problem besteht in der Definition der Strahlenempfindlichkeit eines Patienten. Im klinischen Sprachgebrauch ist es die frühe oder besonders schwere Strahlenreaktion, die den allgemeinen Erfahrungen widerspricht und damit eine erhöhte Empfindlichkeit nahe legt. Es ist aber in bisherigen Veröffentlichungen nicht ausreichend nachgewiesen, ob diese vom behandelnden Arzt subjektiv ausgesprochene Beurteilung immer mit der dokumentierten Toxizität bzgl. Schweregrad und Zeitpunkt des Auftretens übereinstimmt. Die angewandten Beurteilungsmethoden (lineare oder area under the curve Auswertung der Schweregrade von Nebenwirkungen) haben jedoch deutliche Einschränkungen in der Detektion dieser Patienten.

Wäre es möglich, die Patienten mit hoher Strahlensensibilität anhand einer Blutprobe zu identifizieren, so hätte dies Konsequenzen in verschiedenen Bereichen. Zum einen könnten durch ein screening aller Patienten vor Beginn ihrer notwendigen Bestrahlung solche empfindlichen Patienten zur Vermeidung von Bestrahlungspausen mit den bekannten negativen Folgen auf die Tumorkontrolle mit a) einer intensiveren Prophylaxe und frühzeitigen therapeutischen Interventionen, b) eventuell geänderter Fraktionierung oder sogar c) geänderter Enddosis behandelt werden. Sie würden aus Dosisintensivierungsstudien ausgeschlossen, und könnten nicht zuletzt über ihr erhöhtes Risiko informiert werden, was für den einzelnen Patienten ein zusätzlicher Punkt in der Entscheidung für oder gegen bestimmte Therapieoptionen sein könnte. Bei wenig empfindlichen Personen ohne Risikofaktoren könnte hingegen eine Dosissteigerung in Erwägung gezogen werden (Tucker et al., 1996).

Wenn eine erhöhte Strahlenempfindlichkeit vorhersagbar ist, kann es (wenn spätere Studien einen Zusammenhang zeigen) in Zukunft vielleicht auch möglich sein, durch einen besseren Schutz dieser Personen vor Strahlenexposition im niedrigen Dosisbereich (außerhalb der Tumortherapie) negative Folgen zu vermeiden.

Im Rahmen dieses Projektes sollen Patienten mit klinisch erhöhter Strahlenempfindlichkeit mit mehreren biologischen Endpunkten untersucht werden. Zu jedem empfindlichen Patienten wird ein bezüglich der Risiken und Einflussfaktoren vergleichbarer Patient gesucht (matched-pair-Analyse), bei welchem die gleichen biologischen Endpunkte bestimmt werden. Im Vergleich zeigt sich dann ein Hinweis auf die möglicherweise optimale Kombination der Parameter bezüglich des Vorhersagewertes bzw. der Identifikation von Patienten mit erhöhter Strahlenempfindlichkeit.

1.2 Einzelzielsetzungen

1.2.1 Biologische Charakterisierung der Strahlenempfindlichkeit einer definierten Patientengruppe

Ziel war es, durch das Screening einer großen Patientengruppe klinisch strahlenempfindliche Patienten zu detektieren. In Publikationen zum Thema findet sich bis heute durchgängig eine uneinheitliche und oft willkürlich wirkende Definition der klinischen Strahlenempfindlichkeit:

- alle Patienten mit einer akuten Reaktion Grad III (die ist aber bei einer Bestrahlung oberhalb bestimmter Gesamtdosen bei einem bekannten Anteil der Patienten zu erwarten)
- alle Patienten mit einer deutlichen Spätreaktion Grad II oder Grad III, je nach Ansatz (auch diese kommt abhängig von Gesamtdosis und Fraktionierung in bis zu 5% der Fälle vor).

In dieser Untersuchung wurden Patienten erstmals nur dann als empfindlich definiert, wenn durch vorher festgelegte, auf Erfahrungen und publizierten Daten beruhende klinische Kriterien erreicht wurden. Diese Kriterien waren folgendermaßen festgelegt:

Tabelle 1: Kriterien für klinische Strahlenempfindlichkeit

Parameter	**Endpunkt**	**Definition für Empfindlichkeit**	
Early onset	Haut	I° bis 10 Gy Wirkdosis	II° < 30 Gy
	Schleimhaut	II° < 14 Gy	III° < 30 Gy
Severe	Haut	II° < 20 Gy Wirkdosis	III° an der Brust III° bei <40 Gy (Kopf-Hals-Bestr.)
	Schleimhaut	II° <20 Gy	III° < 30 Gy
Prolonged	Haut	III° nach > 3 Wochen	
	Schleimhaut	III° nach > 3 Wochen	

Bei kombinierter Radiochemotherapie und hyperfraktionierter Bestrahlung sind Nebenwirkungen häufig stärker ausgeprägt als bei alleiniger Radiotherapie normaler Fraktionierung. Allerdings ist die Zeit bis zum Auftreten einer Haut- oder Schleimhautreaktion abhängig von der gewebsspezifischen Latenzzeit (dh. von der Umsatzzeit des Gewebes); ein früheres Auftreten der Grad II oder Grad III Reaktion ist daher auch in diesem Fall nicht zu erwarten. Allerdings kommt es bei stärkerer Schädigung gerade typischerweise zu einer verzögerten klinischen Ausheilung (Dörr, bei einem Vortrag 2005). Für die so behandelte Patientengruppe wurde daher nur Kriterium I (early onset) angewandt.

In jedem Einzelfall eines nach den Kriterien als klinisch strahlenempfindlich erkannten Patienten wurde geprüft, ob objektive Einflussfaktoren vorliegen, die diese Reaktion erklären. In diesem Falle wurde der Patient nicht eingeschlossen.
Diesen als klinisch empfindlich erkannten Patienten (E) sollten dann aus dem Gesamtkollektiv der unempfindlichen solche zugeordnet (gematcht, unempfindlich=U) werden, die bezüglich der klinischen Parameter möglichst ähnlich waren (Fall-Kontroll-Studie). Beiden Patientengruppen wurde Blut nach gleicher Teilkörperdosis abgenommen, um durch ein breites Spektrum strahlenbiologischer Untersuchungen die zellulären Unterschiede bei definierter klinischer Unterschiedlichkeit zu charakterisieren.

1.2.2 Analyse klinischer Einflussfaktoren auf biologische und klinische Endpunkte

Im Rahmen dieser Untersuchung sollte außerdem das Ausmaß der Assoziation zwischen biologischen Endpunkten (Chromosomenbrüche, Zellzyklusphasenprogression, Apoptose, Mikronukleusinduktion u.a.) und klinischen Faktoren innerhalb des untersuchten Kollektivs geklärt werden. Zu verschiedenen Endpunkten haben andere Arbeitsgruppen Erfahrungen gesammelt, diese sollen am hier vorliegenden Patientengut überprüft werden.
Bezüglich der klinischen Strahlenreaktion gibt es einen anerkannten Einfluss klinischer Faktoren auf die Ausprägung der Nebenwirkungen. Allerdings wurden die wenigsten dieser Parameter jemals an einem großen Patientenkollektiv gezeigt. In der großen Gruppe der Patienten im screening für die Analyse nach 1.2.1. sollen diese Parameter bezüglich ihres Einflusses analysiert werden und solche Faktoren, die entweder auf biologischer oder klinischer Ebene das Ergebnis relevant beeinflussen können, beim matching berücksichtigt werden.

1.2.3 Detaillierte statistische Analyse und Erprobung neuer Methoden bei der Bewertung der prädiktiven Wertigkeit

Üblicherweise werden in bisherigen Studien mit dem Ziel einer Assoziation von Biologie und Klinik zwei Methoden benutzt, wobei folgende den höchsten Stellenwert hat. Untersucht wird die Ausprägung der biologischen Werte im Gruppenvergleich von Patienten mit und ohne klinisch erhöhte Strahlenempfindlichkeit (wobei letztere uneinheitlich definiert wird, als z.B. alle Patienten mit III° Mukositis ohne Berücksichtigung der Dosis unabhängig von klinischen Faktoren). Das Kollektiv dieses Projektes ist definiert über die klinische Strahlenreaktion, auch wenn eine prospektive Definition zugrunde lag, daher ist diese Betrachtungsweise für uns entscheidend. Darüber hinaus soll durch die Methodik der logistischen Regression eine multiparametrische Analyse erfolgen. Dadurch wird geprüft, ob möglicherweise bei einer Kombination biologischer Endpunkte eine bessere Vorhersage möglich ist.

Alternativ kann die Gruppierung nach biologischem Parameter erfolgen mit Betrachtung der Inzidenz von Nebenwirkungen (z.B. III° Mucositis). Für die Spätreaktionen wurde letztere Methode publiziert (Dikomey et al., 2003), aber bisher nicht prospektiv eingesetzt. In dem Kollektiv der 60 Patienten handelt es sich um ein anhand der Akutreaktion definiertes und gruppiertes Kollektiv; hier ist die zuletzt genannte Methode nicht zulässig, da wir bei einem Zusammenhang von Klinik und Labor ja erwarten, dass die Werte sich 1:1 verteilen. Angewandt werden kann diese Methode nur im Rahmen des Kollektivs, das unter 1.2.5 beschrieben wird.

1.2.4 Detaillierte Betrachtung der klinischen Strahlenreaktion

In der Regel wird ein biologischer Wert mit der Ausprägung eines klinischen Parameters verglichen. Im Ansatz dieses Projektes sollen neben dem definierten Endpunkt klinische Empfindlichkeit (festgelegt anhand der akuten Haut- bzw. Schleimhautreaktion) weitere klinische Parameter überprüft werden. Ziel dieser Überlegung ist, einen Parameter zu finden, der möglicherweise frühzeitig während der Bestrahlungsserie auf die Entwicklung einer später extremen Akutreaktion schließen lässt, wodurch Patienten möglicherweise dann auf eine

modifizierte Bestrahlung umgestellt werden. Weiterhin kann dadurch möglicherweise die klinische Seite der Empfindlichkeit besser definiert werden, was für spätere Studien von Nutzen sein kann.

1.2.5 Evaluation eines zusätzlichen prädiktiven Parameters innerhalb der Infrastruktur des Projekts

In einem Vorläuferprojekt zur Etablierung der Methoden wurde ein Parameter gefunden, der in einer kleinen, inhomogenen Gruppe von Patienten gut mit der klinischen Empfindlichkeit zu reagieren schien: der Wert von Mikronuklei im frisch abgenommenen Blut vor Beginn der Bestrahlung. Da dies am ehesten dem logischen Ansatz eines prädiktiven Parameters entspricht und kostengünstig mit wenig Aufwand durchführbar ist, entschieden wir uns innerhalb der Infrastruktur des Projektes eine größere Zahl von Patienten mit dieser Methode zu untersuchen. Da die organisatorischen Strukturen innerhalb des Projektes geschaffen wurden, zählen wir die Ergebnisse als mit zum Projekt gehörig.

2. Voraussetzungen für die Durchführung

Das Projekt wurde monozentrisch am Universitätsklinikum Münster (UKM) durchgeführt. Die Leitung hatte Frau Dr. Riesenbeck aus der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie – Radioonkologie -. Hier wurden die inhaltlichen Grundlagen erarbeitet, der klinische Teil durchgeführt und das Projekt koordiniert.

Die strahlenbiologischen Untersuchungen wurden im Institut für Strahlenbiologie des UKM von Dr. Greve und Dr. Severin koordiniert und wissenschaftlich betreut. Hier war auch die Vorarbeit für den experimentellen Teil des Projektes erfolgt, z.T. im Rahmen eines ähnlichen Projektes an Ganzkörperbestrahlten Patienten (StSch 4211). Die entsprechende Methodik war im Rahmen eines Vorprojektes etabliert worden. Die Untersuchungen zur Chromosomenbruchanalyse wurden im Institut für Humangenetik des UKM von Frau Dr. Exeler vorgenommen. Diese Zusammenarbeit wurde für das Projekt konkret aufgebaut und der spezielle Untersuchungsablauf etabliert.

Es wurde ein Votum der Ethikkommission der Ärztekammer Westfalen-Lippe eingeholt, nachdem eine Einwilligungserklärung für die Patienten erstellt war. Die Dokumentationsbögen für die Klinik (Basisdaten) und die Patienteninformation wurden entsprechend der Vorgaben der Kommission noch modifiziert (Anlage 3). Aus einer bestehenden engen Kooperation mit dem Institut für Medizinische Informatik und Biomathematik (IMIB) heraus wurde der Leiter des KKS Münster (Koordinierungszentrum für Klinische Studien), Herr Dr. Heinecke, in die Planung der Statistik des Vorhabens einbezogen.

3. Planung und Ablauf der Untersuchungen

3.1 Planung

Aufgrund vorangegangener Untersuchungen an einem Kollektiv von 50 Patienten mit Blutabnahme vor Beginn der Bestrahlung hatten wir eine Palette neuerer strahlenbiologischen Untersuchungen für die Frage der Prädiktion von Strahlenempfindlichkeit etabliert. Erste Ergebnisse hatten gezeigt, dass sich in einigen Bereichen eine Korrelation von klinischer Nebenwirkung und strahlenbiologischem Assay andeutete, woraus sich der Sinn einer Überprüfung an einem größeren Kollektiv ergab. Einige retrospektive Untersuchungen in anderen Arbeitsgruppen zeigten eine gute Korrelation von auffälligen Werten in der Chromosomenbruchanalyse und klinisch starker Strahlenreaktion; daher wurde diese in das Spektrum der Untersuchungen aufgenommen. Ziel war von Anfang an, mehrere Verfahren und

Endpunkte in eine Endauswertung einzubeziehen, die dazu notwendigen statistischen Methoden wurden etabliert.

Auf die Ausschreibung des Projektes hin wurden diese internen Abläufe in ein Protokoll aufgenommen und dieses strukturell den Vorgaben der Ausschreibung angepasst. Dadurch entstand die Notwendigkeit, das vorgesehene screening im Blut von Patienten vor Beginn der Radiotherapie zugunsten der Analyse eines Kollektivs aus empfindlichen und gematchten umzustellen. Als konkrete Vorarbeiten wurde der Erhebungsbogen für die klinischen Basisdaten der Patienten erstellt, die als Einflussfaktoren der biologischen Parameter oder der klinischen Reaktion gelten (Anlage 1). Weiterhin wurde der vorhandene klinische Dokumentationsbogen für Nebenwirkungen der Bestrahlung nach der RTOG-Klassifikation so modifiziert, dass die im Rahmen des Projektes notwendige differenzierte Erfassung von Nebenwirkungen an 3-4 Arealen der bestrahlten Haut und an 12 Arealen der bestrahlten Schleimhaut möglich war (Anlage 2). Die Logistik von Blutabnahme, Zeitablauf der Untersuchungen, Koordination zwischen Klinik und zwei Laboratorien wurde etabliert und erprobt. Alle Mitarbeiter der Klinik wurden über das Projekt informiert und die standardisierte, zweimal wöchentliche klinische Kontrolle aller Patienten organisatorisch geregelt. Die bewilligten Stellen wurden ausgeschrieben.

3.1.1 Klinischer Teil

3.1.1.1 Patientenkollektiv

Ziel der Untersuchung war es, durch Korrelation strahlenbiologischer Untersuchungsergebnisse von Patienten mit starker und normaler Reaktion von Normalgeweben unter Therapie zu ermitteln, welche dieser Untersuchungen einzeln oder in Kombination einen prädiktiven Wert zur Erfassung einer erhöhten Strahlenempfindlichkeit haben. Zielorgan der Untersuchungen war a) die Schleimhaut von Mund und Rachen sowie die b) die Haut im Bestrahlungsfeld. Eingeschlossen wurden Patienten mit soliden Tumoren, die eine Strahlentherapie im Kopf-Hals-Bereich erhalten; als zweite Gruppe schlossen wir Patientinnen mit Bestrahlung der Brust ein. Die Klassifikation der Nebenwirkungen erfolgte nach den Kriterien der RTOG/EORTC – Klassifikation. Für diese Definition des Kollektivs sprach, dass von dem definierten Patientengut ausreichend viele Patienten im geplanten Untersuchungszeitraum in der Klinik behandelt wurden und die klinischen Nebenwirkungen objektiv beurteilbar waren. Alle Patienten mit einer vorhergehenden Therapie, die eine Veränderung der Testergebnisse erwarten ließ (auch wenn dies bisher nicht abschließend bewiesen ist), wurden nicht eingeschlossen (frühere Strahlen- oder Chemotherapie). Eine kombinierte Strahlen-Chemotherapie hat ein bekanntes Nebenwirkungsspektrum, diese Patienten konnten eingeschlossen werden. Auch bei einer vorhergehenden bzw. parallel durchgeführten Behandlung mit (Anti)hormonen ist eine Veränderung der strahlenbiologischen Parameter nicht zu erwarten; dennoch wurde bei Frauen die antihormonelle Therapie dokumentiert, da kleine Untersuchungen mittels Chromosomenanalysen eine erhöhte Strahlenempfindlichkeit von Zellen in Anwesenheit hoher Östradiolkonzentration zeigten (Kanda und Hayata, 1999).

Alle Patienten mit auffälliger Strahlenreaktion im Rahmen einer der o.g. Therapien wurden mit ihrem Einverständnis in die Untersuchung eingeschlossen. Anschließend wurde ein bezüglich Tumor, Therapie und Kofaktoren vergleichbarer Patient gesucht und nach Einverständnis ebenfalls eingeschlossen. Ziel war der Einschluss von 30 empfindlichen und 30 gematchten Patienten insgesamt.

3.1.1.2 Planung und Strukturierung allgemeiner klinischer Abläufe

Von entscheidender Bedeutung für den Erfolg dieses Projektes war zunächst die Qualität der Erfassung und Dokumentation der klinischen Nebenwirkungen. Grundvoraussetzungen dafür sind:

a) Erfassung von Kofaktoren der Strahlennebenwirkungen und Ausgangsbefund
b) objektive Parameter für die Klassifikation der Nebenwirkungen, unabhängig vom Untersucher
c) Dokumentation in einem engen Zeitraster, möglichst zweimal wöchentlich
d) Vereinheitlichte Maßnahmen zur Therapie und Prophylaxe der Nebenwirkungen (wesentliche Unterschiede in prophylaktischen Maßnahmen am Zielorgan könnten Unterschiede in der Empfindlichkeit vortäuschen)
e) Patientencompliance durch engmaschige Betreuung (nicht zwingend nötige Therapiepausen müssen vermieden werden)

3.1.1.3 Klassifikation und Dokumentation der Nebenwirkungen

Diese erfolgt auf den in der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie – Radioonkologie - etablierten Bögen klassifiziert nach RTOG/CTC. Bei den Studienpatienten wurde nach Einschluss die detaillierte Dokumentation der Verteilung von Veränderungen bezogen auf die Mundschleimhaut als Zielorgan der Untersuchung durchgeführt, und dies zweimal wöchentlich, wozu der vorhandene Bogen modifiziert wurde.

Kriterium der Strahlenreaktion an der Mundschleimhaut war das Ausmaß der sichtbaren Läsion. Hier gibt es in der Beurteilung durch Ärzte subjektive Unterschiede, durch einen Fotokatalog mit Beispielen (Riesenbeck,1998/II), der in den Untersuchungszimmern aushängt und als Referenz dient, ist die Beurteilung jedoch deutlich vereinheitlicht worden. Dies gilt in gleicher Weise für die Hautreaktion. Die textlichen Beschreibungen waren jedem Dokumenationsset beigeheftet. Durch die bestehenden Behandlungsrichtlinien innerhalb der Abteilung und regelmäßige Fortbildungen wurde der subjektive Unterschied in der Beurteilung der Schweregrade von Nebenwirkungen, den auch die o.g. Klassifikation noch offen lässt, insgesamt reduziert. Außerdem war es das Ziel dieses Ansatzes, möglichst viele Patientenkontakte durch die beiden Studienärzte durchzuführen.

3.1.2 Theoretische Grundlagen des experimentellen Teils und des Methodenspektrums

Bei der Einwirkung ionisierender Strahlung kann es an der DNA zu Doppel- oder Einzelstrangbruch, einer Modifizierung oder Eliminierung der Nukleinsäurebasen oder einer Vernetzung der DNA-Polynukleotidketten kommen. Durch die direkte Betrachtung können diese Schäden quantifiziert werden, daher ist die Messung des Schadens auf Chromosomenebene seit Jahrzehnten in der zellulären Dosimetrie etabliert.. Die genannten Schäden können mit Hilfe verschiedener Reparatursysteme in der sog. G2-Phase beseitigt werden. Allerdings wird der relative Anteil der reparierten Schäden mit steigender Dosis kleiner, und die zur Reparatur benötigte Zeit wird länger (d.h. Verlängerung der G2-Phase, auch G2-Arrest genannt). Patienten mit genetisch bedingten Erkrankungen wie z.B. Ataxia teleangiectasia, Xeroderma pigmentosum, Fanconi-Anämie oder Bloom-Syndrom weisen Defizite dieser Reparatursysteme auf, so dass Strahlenschäden der DNA nicht adäquat beseitigt werden können. Die nicht-reparierten Schäden führen abhängig vom individuellen Zellschaden zu Apoptose oder zur Bildung von Mikrokernen. Diese werden daher von uns als indirekte Marker des strahlenbedingten Zellschadens bestimmt.

Der größte Teil der Strahlenwirkung geschieht durch indirekte Ionisation, d.h. die einstrahlenden Quanten führen zu Radikalbildung, der Schaden am Chromosom wird dann durch die Radikale verursacht. Somit kann theoretisch das Ausmaß des Schadens durch die Anwesenheit antioxidativ wirkender Substanzen beeinflusst werden. Auf dieser theoretischen Überlegung beruht der Ansatz, die allgemeine antioxidative Kapazität im Serum zu bestimmen.

3.2. Ablauf.

3.2.1. Klinischer Teil

Mit Beginn des Projektes zum 01.10.2001 wurde mit dem Screening aller Patienten mit Bestrahlung von Mundhöhle oder Brust begonnen. Bis Mai 2004 wurden alle entsprechenden Patienten eingeschlossen. Am ersten Bestrahlungstag erfolgte die Dokumentation der Basisdaten und Kofaktoren sowie des Ausgangsbefundes bezüglich des gesamten Nebenwirkungsspektrums. Im weiteren erfolgte zweimal wöchentlich die klinische Untersuchung im Bestrahlungsfeld und Befragung der Patienten bezüglich aller Nebenwirkungen. Die Erläuterungen zur Pflege waren im gesamten Zeitraum einheitlich und wurden den Patienten sowohl mündlich in wiederholten Gesprächen als auch schriftlich in Merkblättern nahe gebracht (Anlage 4).

Zeitgleich wurde mit dem Aufbau einer Datenbank begonnen. Die Einstellung der zwei bewilligten Mitarbeiter erfolgte zeitversetzt. Eingestellt wurden ein ärztlicher Mitarbeiter zum 15.03.02 und eine Biostatistikerin zum 01.05.02 mit jeweils einer halben Stelle BAT IIA. Diese Mitarbeiter wurden von Frau Riesenbeck intensiv eingearbeitet. Durch Kongressbesuche wurde die Übersicht über das Fachgebiet und der Einblick in die Arbeitsweise und Methodik anderer Projektgruppen gefördert.
Der Arzt (M. Ibrahim) wurde in der Klinik zur Patientenuntersuchung eingesetzt. Er musste die Grundlagen der Radioonkologie erlernen und sich parallel alle Aspekte von Nebenwirkungen und Supportivtherapie aneignen. Zur Homogenisierung der Ergebnisse wurden 6 Wochen lang die Stadieneinteilung der Haut- und Schleimhautreaktion in allen Fällen von Grad II oder III Reaktionen zusammen von Herrn Ibrahim und Frau Riesenbeck vorgenommen. Insgesamt wurden sehr selten andere Mitarbeiter (insgesamt 9) mit der Untersuchung von Patienten betraut, wenn es gar nicht anders möglich war. Dennoch wurden insgesamt 88% aller Patientenkontakte von Frau Riesenbeck oder Herrn Ibrahim durchgeführt. Jede abgeschlossene Patientendokumentation wurde zeitnah von Frau Riesenbeck auf Vollständigkeit und Plausibilität geprüft und ggf. ergänzt.

Die Statistikerin (C. Liebscher) wurde zunächst in die Fragestellung eingearbeitet und organisierte die Datenbank vollständig neu, was für eine Vereinfachung der Datenanalyse in SAS notwendig war. Aus den Erkenntnissen der ersten Monate wurden dann auch die Bögen noch einmal überarbeitet, für die abgeschlossenen Bögen die entsprechenden Parameter nacherfasst, und mit der Dateneingabe begonnen. Die Kontrolle der Plausibilität und Qualität der Dateneingabe erfolgte doppelt durch Frau Riesenbeck (mit Durchsicht von Tabellen) und Frau Liebscher (per programmierter Fehler- und Lückensuche in SAS). Durch diese Mehrfach-Kontrollen wurde der Anteil fehlender Werte auf der klinischen Seite minimiert und insgesamt die Qualität der Datenbank optimiert. Im weiteren wurden die Auswerteschritte programmiert und an verschiedenen updates durchgeführt. In der Endphase wurden die Berechnungen und die Analyse mittels logistischer Regression in enger Zusammenarbeit mit Dr. Heinecke (Leiter des KKS Münster) durchgeführt.

Bei den als empfindlich eingestuften Patienten erfolgte vor endgültigem Einschluss eine Kontrolle auf Einhaltung der Kriterien durch Herrn Ibrahim und Frau Riesenbeck. In Zweifelsfällen (die klinische Unterscheidung zwischen Grad II und III Schleimhautreaktion ist manchmal schwierig) wurde zur Objektivierung ein anderer, ebenfalls klinisch erfahrener Arzt hinzugezogen (Prof. Willich, Dr. Könemann, Dr. Hesselmann). Die Blutabnahme erfolgte nach schriftlicher Zustimmung der PatientInnen; erfreulicherweise gab es hier nur eine Ablehnung. Der Einwilligungsbogen wird in Anlage 3 vorgestellt. Die Dosis zum Zeitpunkt der Blutabnahme wurde zusammen mit anderen Faktoren (Alter, Tumorart, -stadium und –Histologie, Operationsart, Chemotherapie, Medikamente, Komorbiditäten) auf einer Matching-Liste eingetragen.

Für das matching wurde die Suche nach geeigneten Patienten zunächst von Frau Riesenbeck zusätzlich zu den anderen Aufgaben durchgeführt. Dadurch war anfangs ein stringentes matching rein zeitlich nicht möglich. Außerdem wurde versucht, Patienten auszuwählen, die möglichst für alle Parameter identisch waren. Es zeigte sich, dass innerhalb von 9 Monaten kein Patient gematcht werden konnte und eine Änderung dringend notwendig war. Es wurde eine Doktorandin mit der regelmäßigen Durchführung des matchings betraut, wobei die Kontrolle weiterhin durch Frau Riesenbeck erfolgte. Durch die festen Termine wurde jeder neue Patient mit der Liste der Empfindlichen verglichen. In den folgenden Monaten konnten so 1 bis 2 Patienten pro Quartal gematcht werden. Im Juni 2003 wurde klar, dass bei diesem Tempo der Rekrutierung die Zahl von 30 Patienten nicht erreicht werden würde. Nachdem auch die Rücksprache mit anderen Forschern ergab, dass nur selten Kriterien so eng ausgelegt wurden, erfolgte sukzessive die Reduktion von Kriterien für das matching. Im Mai 2004 waren 30 empfindliche und 30 gematchte Patienten eingeschlossen und hatten im Juni 2004 die Bestrahlung beendet, sodass mit der Endanalyse der Daten begonnen werden konnte. Bei der Analyse der Daten zeigte sich, dass nur einige der beim matching berücksichtigten Parameter die Strahlenreaktion oder die in-vitro Untersuchungsergebnisse signifikant beeinflussen; daher wurde noch einmal kontrolliert, ob von den 30 Paaren nicht durch Umstellung der Zuordnung von U zu E eine verbesserte Übereinstimmung erreichbar wurde. Der endgültigen Stand des Paarbildung ist unten beschrieben.

Ein wesentlicher Faktor war von vornherein, dass bei der Blutabnahme gematchter Patienten die gleiche Teilkörperdosis erreicht sein sollte wie bei den jeweiligen empfindlichen Partnern. Aus den beschriebenen Schwierigkeiten ergab sich, dass dies nicht in allen Fällen erreicht werden konnte. Bei 17 Paaren wurde das Blut bei gleicher Teilkörperdosis abgenommen (+/- 2 Gy). Bei vier Paaren betrug die Differenz zwischen 3 und 6 Gy, bei zwei Paaren zwischen 10 und 20 Gy und bei 7 Paaren mehr als 21 Gy (vgl. Abb. 1 und 2).

Nach der oben beschriebenen Neusortierung der Paare anhand aller anderen Parameter ergab sich natürlich ein etwas anderes Bild. Hier fanden sich noch 7 Paare mit einer Differenz bis 2 Gy, vier mit einer Differenz von 4 bis 9 Gy, sechs mit Unterschieden von 10 bis 20 Gy und 13 mit Unterschieden von mehr als 22 Gy. Da jedoch die Zuordnung zur Gruppe (E und M) gleichblieb, ist es für die Bewertung von strahlenbiologischen Ergebnissen (Teil II, 1.3.4 und 1.3.6) ohne Relevanz.

Abbildung 1: Dosis bei Blutabnahme im Vergleich der matching-Paare

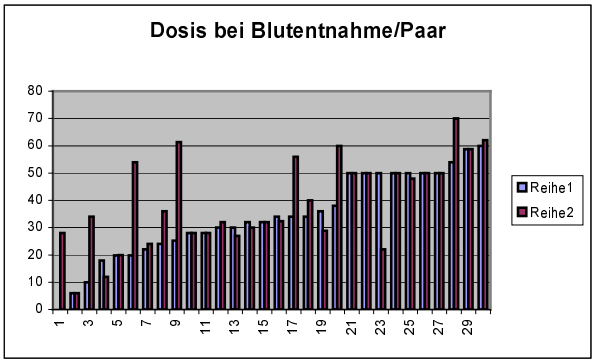
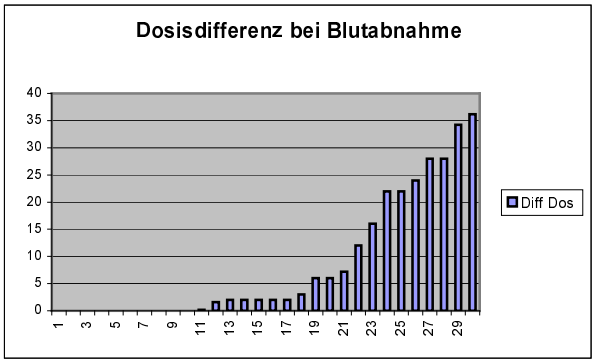


Abbildung 2: Differenz der Dosis bei Blutabnahme für alle Paare



Neu war die von uns verwendete Einschätzung der Befindlichkeit und der Beziehungssituation der Patienten, um diese psychologischen Faktoren als Einflussfaktor für klinische Reaktionen zu evaluieren. Dazu wurde eine eigene, grobe Skalierung zur Fremdeinschätzung durch den Arzt eingesetzt. Dokumentiert wurden diese Parameter am Ende der Bestrahlungsserie, wenn durch den mindestens 5 Wochen dauernden Kontakt ein Verhältnis entstanden war, das eine grobgerasterte Beurteilung erlaubte. Bei der Befindlichkeit gab es die Kategorien nicht

eingeschränkt (1), gering eingeschränkt (2), deutlich eingeschränkt (3) und stark eingeschränkt (4). Einige Beispiele: Informierte Patienten, die zwar ab und zu Sorge äußerten, aber insgesamt die Krankheit gut verarbeiteten und auch äußerten, die Therapie als wenig belastend zu erleben waren Kategorie 1. Wurden wiederholt Sorgen laut, auffällig viele sich wiederholende Fragen gestellt oder selbst eine eingeschränkte Krankheitsverarbeitung angegeben so wurde die Kategorie 2 vergeben. Patienten, die unangemessen aggressiv auf organisatorische Schwierigkeiten reagierten und tägliche Arztkontakte benötigten bei immer gleichen Bagatellbeschwerden entsprachen Kategorie 3; hier wurden auch Patienten erfasst, die sich bewusst verschlossen gaben und jegliche Kommunikation auf ein extremes Minimum reduzierten. Als stark eingeschränkt (Kategorie 4) wurden Patienten beurteilt, die eine aktive psychiatrische Grunderkrankung diagnostiziert hatten.

Eine ähnliche, orientierende Kategorisierung erfolgte bei der Beziehungssituation. Kategorie 1 (nicht eingeschränkt) hatten Patienten, die ausdrücklich und glaubhaft die bestehende familiäre Unterstützung erwähnten bzw. demonstrieren konnten oder die keine Probleme mit dem Alleinleben oder anderen Familienangehörigen äußerten. Patienten, die von bestehenden Schwierigkeiten im Rahmen ihrer sozialen Beziehungen berichteten waren Kategorie 2 (etwas eingeschränkt). Wirkte sich diese Einschränkung auf das tägliche Leben der Patienten aus, wurde Kategorie 3 vergeben (deutlich eingeschränkt): tägliche Sorgen, Streit und Kummer. Patienten, die sich in einer Krise im persönlichen Umfeld befanden, wurden als Kategorie 4 eingestuft (stark eingeschränkt). Das waren z.B. Patienten in einer akuten Trennungsphase vom Partner, Todesfällen in der nächsten Familie während der Bestrahlungszeit oder solche, deren Trauer über Tod und Trennung noch nach Jahren als sehr akut schmerzhaft erlebt wurde und deren Gespräche davon dominiert wurden.

3.2.2. Untersuchungen im strahlenbiologischen Labor

3.2.2.1. Organisatorischer Ablauf und fehlende Werte

Die Durchführung der Untersuchungen im strahlenbiologischen Labor erfolgte weitestgehend problemlos. In einigen Fällen kam es zu einem nicht-ausreichenden Anwachsen von Zellen im Rahmen der vorgesehenen Analyse, dementsprechend fehlen für einige Patienten einzelne Werte: für die Mikronukleus-Messung fehlen Werte von einem Patienten, beim Quenching fehlt für 6 Patienten die gesamte Messreihe und für einen Patienten der Wert bei Bestrahlung mit 1 Gy. Die Messung der antioxidativen Kapazität mit der ABTS-Methode fehlt bei einem Patienten; die Messung der Apoptose fehlt bei 2 Patienten komplett und bei drei Patienten fehlen ein oder zwei Werte aus der Messreihe.

3.2.2.2. Theoretische Überlegungen und Durchführung der einzelnen Analysen

Alle Untersuchungen wurden unmittelbar nach Blutabnahme begonnen. Das Blut war bis 11.00 Uhr abgenommen und wurde dann direkt verarbeitet wie unter den Einzelanalysen beschrieben.

Dabei wurde beachtet, dass den gematchten Patienten das Blut jeweils bei der Teilkörperdosis abgenommen wurde, bei der die Blutabnahme auch bei dem empfindlichen Patienten erfolgt war. Die Details dieser Zuordnung finden sich in den matching-Tabellen unter Teil II-1.3.1.3 und 1.3.1.4 wieder. Hier stehen auch Angaben zu Dosis, Fraktionierung und Strahlenqualität im Kollektiv der 60 Patienten.

3.2.2.2.1. Mikronukleusmessung

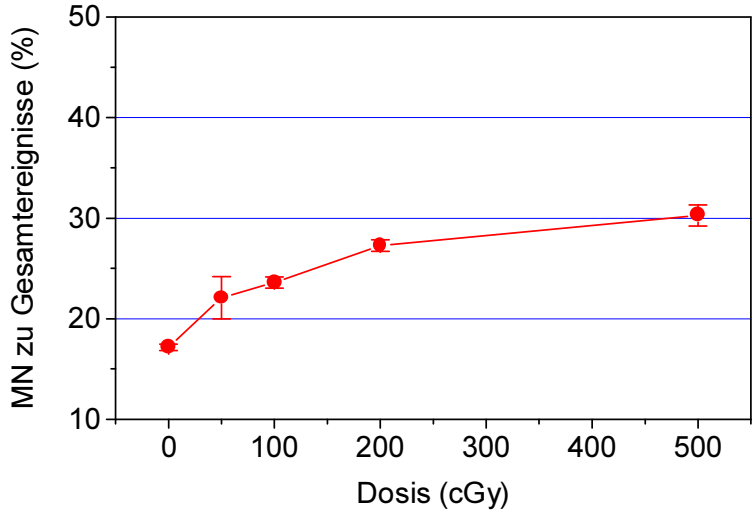
Durch Bestrahlung induzierte Mikronuklei sind als quantitativer Index zur Messung des chromosomalen Schadens und als Mutagenitätstest zur Beschreibung von Strahlenschäden schon lange anerkannt. Hierzu verschiedene Beispiele: Countryman und Heddle haben 1977 festgestellt,

dass der chromosomale Schaden an Lymphozyten nach Bestrahlung von Trisomie 21-Patienten höher ist als der anderer Patienten. Rothfuß et al. (2000) untersuchten Patienten mit BRCA1 Mutationen, die im Mikronukleustest im Vergleich zu den anderen Probanten erhöhte MN Werte zeigten (Barber et al., 2000). Mikronuklei sind membranumschlossene Partikel, die genetisches Material enthalten, das während der Zellteilung vom Genom abgetrennt wurde. Mikronuklei können während der Mitose aus azentrischen Chromosomen und aus Chromatidfragmenten entstehen, die nicht zu den Spindelpolen wandern. In der Telophase bildet sich um die zurückbleibenden Chromosomen und Fragmente eine Kernhülle, die sich dann aufrollt und allmählich die Morphologie eines Interphase Kern entsteht, der aber kleiner als der Hauptkern der Zelle ist. Daher lautet die Bezeichnung „Mikronukleus“ (Fenech, 2000). Mit steigendem DNA-Gehalt der durch Bestrahlung entstandenen Mikronuklei enthalten diese eines oder mehrere Chromosomen (Nüsse et al., 1996). Es ist bewiesen, dass Mikronuklei nur in sich teilenden eukaryontischen Zellen entstehen. Daher kann der MN-Test nicht effizient und quantitativ in sich nicht teilenden Zellpopulationen oder in mitotischen Populationen, bei denen die Zellteilungskinetik nicht erforscht ist, bestimmt werden (Fenech, 2000).

Da die Lymphozyten der verschiedenen Spender unterschiedlich auf die zellproliferierende Stimulation reagieren, ist die quantitative Analyse der Mikronuklei stark von der Proliferationskinetik abhängig. Die Genauigkeit des Mikronukleustests kann erhöht werden, wenn die Zellen nur einen einzigen Teilungszyklus nach der Exposition durchlaufen (Schreiber et al., 1992). Fenech und Morley haben zur Identifizierung der Lymphozyten im ersten Zellzyklus Cytochalasin B als Zytokinesis-Block verwendet und konnten so die Mikrokerne, die nach Bestrahlung entstanden sind, differenzieren. Dieses Verfahren ist bei der Anwendung des MN-Tests weit verbreitet. Es besteht jedoch ein steigendes Interesse an einem in vitro MN-Test, der ohne Cytochalsin B durchgeführt wird, da ein Risiko falsch negativer Resultate und einer inadäquaten Kontrolle der Teilungskinetik besteht, z.B. dass die Hemmung der Zellteilung eine Hemmung der Mikronukleus Expression mit sich bringt (Fenech 2000). Im strahlenbiologischen Labor wurde zur exakten quantitativen Messung der Mikrokerne eine neue Methode angewandt. Nach genau definierten Zeitabständen wird die Mikronukleusinduktion automatisch mittels Durchflußzytometer gemessen. Daher entfällt die mikroskopische Auswertung, die sehr zeitaufwendig ist, da bis zu tausenden von Zellen einzeln betrachtet werden müssen. Im Vergleich der beiden Methoden hat die Auszählung mit dem Durchflußzytometer nicht nur in Bezug auf die Zeitreduktion Vorteile, sondern auch was die Zählfehlerquote betrifft (Torous et al., 2003). Allerdings können unspezifische Debris (wie z.B. freie mitotische Chromosomen) die durchflußzytometrischen Ergebnisse beeinflussen. Um dies zu vermeiden, wird zu den isolierten Lymphozyten ein fluoreszierender Kernfarbstoff (DAPI) gegeben. Mit dem Durchflußzytometer wird eine begrenzte Spektralanalyse durchgeführt und dabei die Fluoreszenzsignale der einzelnen DNA Partikel in zwei verschiedenen Wellenlängenbereichen (435 nm blau und 570 nm orange) gemessen. Die Messung wird in Form eines Histogramms dokumentiert, in dem die Software die Fluoreszenzintensität im blauen Messbereich gegen die im orangenen Bereich aufträgt. Signale mit gleicher Fluoreszenzintensität bei beiden Wellenlängen werden als Punkte auf der Diagonalen wiedergegeben und stammen von Kernen oder Kernfragmenten, solche außerhalb der Diagonalen stellen unspezifisch fluoreszierende Partikel dar. Mit diesem Verfahren kann der Debris erkannt und aus der Berechnung ausgeschlossen werden. Jede Messung besteht aus 20000 Ereignissen, deren Gesamtzahl in Bezug zur Zahl der Mikrokerne gesetzt wird. Auf diese Weise erhält man das Verhältnis zwischen den zellulären Ereignissen der Lymphozyten in R1 und der Mikronuklei R2. Da jeder einzelne Mikronukleus zu einem Kern mit geringerem DNA-Gehalt gehört, als er in normalen Zellen enthalten ist, lässt sich schließen, dass die Anzahl von Kernen mit einem DNA-Gehalt zwischen 10-90% zur Anzahl der Mikronuklei ohne Debris korrespondiert (Greve et al., 1999). Dabei zählt zu den mikronukleären Ereignissen folgendes: Dizentrische Chromosomen, Ringchromosomen, DNA-Fragmente, DNA-Brüche und Radiärstrukturen. Die Abbildung 3 zeigt eine Dosis-Effekt-Kurve für Lymphozytenkulturen (unveröffentlicht).

Die Lymphozyten sollen auf einem Ficollgradienten isoliert werden. Dazu wird das Vollblut 1:1 mit PBS (phosphate buffered saline)/BSA/Heparin Puffer verdünnt. Es werden 4ml des verdünnten Blutes über 3ml Ficoll (Fa. ICN) geschichtet. Diese werden 20 min bei 1600 rpm zentrifugiert. Dann wird der entstandene Lymphozytenring vorsichtig abgenommen und in Spitzenröhrchen übertragen. Diese werden mit PBS – Puffer aufgefüllt. Es erfolgt eine weitere Zentrifugation von 15 min bei 1000 rpm. Der Überstand wird abgegossen und mit 150 Mikroliter PBS/BSA/Heparin – Puffer resuspendiert und für die Mndir-Messung verwendet. Zur Kultivierung der Vollblutproben werden in eine Petrischale 4ml Medium (2,6ml RPMI, 15% foetal calf serum) unter Zusatz von 150 Mikrolitern PHA gegeben und 300 Mikroliter Heparinblut hinzugefügt. Der Ansatz wird im Brutschrank 24 h bei 37 Grad Celsius, 100% Luftfeuchtigkeit und 5% CO2 inkubiert. Danach erfolgt eine Teilung der Kultur und die Bestrahlung mit dem Müller MG 150 Gerät (100kV, 10mA, 1mm AL-Filter, 31 cm Abstand) mit 0,5 Gy, 1 Gy, 2 Gy, oder 5 Gy Einzeldosen. Die Dosisrate beträgt 1,675 Gy/min. Die Proben werden weitere 72h im Brutschrank inkubiert. Anschließend werden die Lymphozyten wie oben beschrieben auf einem Ficollgradienten isoliert, in ein Spitzenröhrchen übertragen und mit PBS – Puffer aufgefüllt. Das Gemisch wird 15 min bei 1000 rpm zentrifugiert und der Überstand abgegossen. Es erfolgt eine Resuspendierung mit ca. 150 Mikrolitern PBS/BSA/Heparin – Puffer.

Abb. 3: Dosis-Effekt Kurve der Mikronukleusinduktion bei einer Normalperson



Sowohl die gereinigten Lymphozyten aus der MN – direkt Probe als auch die der bestrahlten Proben werden mit 2,5ml DAPI (Cystain, Partec Münster Germany) gefärbt und direkt im Durchflußzytometer (PAS III) gemessen. Dabei sollte folgende Geräteeinstellung benutzt werden: Meßgeschwindigkeit (Speed): je nach Zelldichte zwischen 2 und 4 (ca. 300 events/s); Signalverstärkung (Gain): Je nach Probe (G1 – Peak sollte auf dem Kanal 100 liegen); Skalierung (Lin/Log): Log 3 für beide Parameter. Es werden 20000 Ereignisse gemessen und nach einem standardisierten Protokoll ausgewertet. Dabei wird die Zahl der Gesamtereignisse in Bezug zur Zahl der Mikrokerne gesetzt. Die Auswertung der Messdaten erfolgt mit der Software „Flo Max“ (Partec, Münster).

3.2.2.2.2. Zellzyklusphasenprogression

Das heutige Wissen über die Zellzyklusphasenprogression basiert auf autoradiobiographischen Untersuchungen von Howard und Pelc (z.B. 1952), nach denen vier Phasen unterschieden werden. Die G1-Phase, die zwischen Mitose und Beginn der frühen S-Phase liegt entspricht der Funktionsphase der Zelle mit Wachstum des Zytoplasmas und ggf. Einleitung der Teilung. In der S-Phase (Synthese-Phase) erfolgt die identische DNA-Reduplizierung. In der G2-Phase, die vom Ende der S-Phase bis zur Mitose dauert, werden Reparaturvorgänge vorgenommen, bevor die Zelle in die Mitose eintritt. Die Zellteilung wird in der Mitosephase (M-Phase) vollzogen. Sie

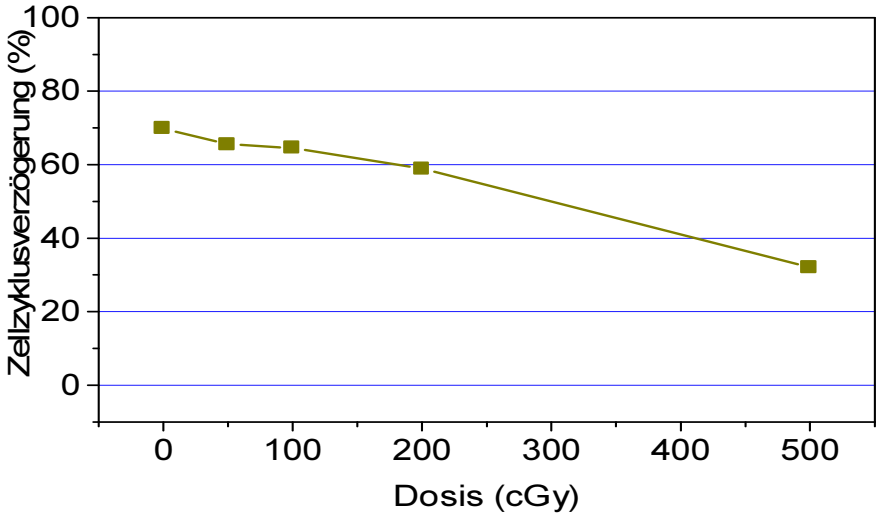
besteht aus der Prophase, der Metaphase, der Anaphase und der Telophase. Zusätzlich zu diesen vier Zellzyklusphasen kann eine G0-Phase unterschieden werden. G1-Zellen können in diese Ruhephase über einen variablen Zeitraum eintreten (Tage bis Jahre), bevor sie durch einen Stimulus in den Zellzyklus wieder eingeschleust werden. Die gesamte Dauer der S-, G2- und M-Phase beträgt im allgemeinen zwischen 8-20 Stunden, wobei die S-Phase die längste und die M-Phase die kürzeste Zeitdauer hat. Die Länge der G1-Phase kann im Bereich von weniger als 1 Stunde bis hin zu Tagen variieren.

Es wird angenommen, dass die Zellen durch eine Verzögerung des Zellzyklus zusätzlich Zeit gewinnen, um die DNA-Schäden vor der DNA Replikation oder Zellteilung zu reparieren. Auf diese Weise werden unreparierte DNA-Schäden, die zum Zelltod führen können, verhindert (Gilberetz et al., 1998). Die Bedeutung der G2-Phase in Bezug auf DNA Reparatur und Zellüberleben nach Bestrahlung haben Weinert et al. (anhand von Hefen der Gattung Saccharomytes cervisiae mit Defekten in G2-Phase regulierenden Genen untersucht. Zu den Genen, die essentiell für einen G2-Block sind, gehören RAD9, RAD17, RAD24, MEC1, MEC2 und MEC3. Die Ergebnisse zeigten, dass mit sinkender G2-Dauer das Zellüberleben ebenfalls abnimmt.

1973 war Latt der Vorreiter, der den Hoechst Fluoreszenz Quenching Effekt von BrdU-haltiger DNA beschrieben hat. Die mikroskopische Untersuchung von Metaphase-Zellen erlaubte eine Unterscheidung der Zellen in den ersten drei Zellzyklen, so dass die Zellphasenkinetik offensichtlicher wurde. Der Einsatz des Durchflußzytometers beschleunigte eine genaue Untersuchung der DNA Synthese mit der BrdU Technik (Latt et al., 1977). 1988 beschrieben Rabinovitch et al. für synchrone und 1992 Ormerod und Kubbies für asynchrone Zellpopulationen die in dieser Studie angewandte Färbungstechnik, bei der die BrdU-haltige DNA mit Hoechst 33258 und Ethidiumbromit angefärbt wird. Mit dieser Methode kann ein erweitertes Spektrum von zytotoxischen oder anderen Behandlungen und der daraus folgenden Wirkung auf die Kinetik des Zellzyklus erfasst werden.

Das Tymidin in der DNA von Zellen kann mit der Benzimidazol Komponete von Hoechst 33258 spezifisch gefärbt werden. Wenn Zellen in einem Medium mit BrdU wachsen, bauen sie während der Synthese BrdU anstatt von Tymidin in die neu synthetisierte DNA ein (Böhmer 1979). Mit dem Durchflußzytometer wird der kontinuierliche Einbau von Bromodeoxyuridin (BrdU) in asynchronen Zellen gemessen, um die strahlungs-induzierte Zellzyklusphasenverzögerung zu beschreiben. Nach dem Einbau von BrdU werden die Zellen mit Ethidium-Bromid und Hoechst 33258 Fluoreszenz gefärbt. Diese Leuchtfarben haben unterschiedliche Färbungsmuster. Hoechst 33258 erscheint unter UV-Licht blau und färbt während der Synthesephase eingebautes BrdU in der DNA nicht an. Die genaue Farbwirkung von Hoechst 33258 an der DNA, Chromatin und Metaphase Chromosomen wurde von Latt et al. 1975 beschrieben. Ethidium Bromit färbt im Gegensatz zu Hoechst 33258 auch die BrdU-haltige DNA an und fluoresziert unter UV-Licht rot. Auf diese Art und Weise kann die rote Fluoreszenz gegen die blaue aufgetragen und einzelne Subpopulationen durch den Einbau von BrdU beim Durchlaufen des Zellzyklus untersucht werden. Auf diese Weise wird die neu synthetisierte DNA und damit die Zellzyklusverzögerung nach Bestrahlung in asynchronen Zellpopulationen gemessen (Gilligan et al., 1996). Die Resultate mit der BrdU-Quenching Technik können durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden. Dazu gehören die BrdU-Konzentration, die Zelldichte der Population, der Zelltyp, die Farbstoffkonzentration, die Art des Farbstoffes, die Inkubationstemperatur und die Modulation der BrdU-Fluoreszenz, die in die DNA integriert ist (Kubbies et al., 1983). Die Versuchsbedingungen müssen daher genau festgelegt werden. Eine dosisabhängige Zellproliferation für Lymphozytenkulturen ist in Abb. 4 wiedergegeben (unveröffentlicht).

Abb. 4: Dosis-Effekt Kurve der Zellzyklusprogression bei einer Normalperson



Zur Isolation der Lymphozyten aus den Blutproben werden diese auf dem Ficollgradienten zentrifugiert. Dazu wird das Vollblut 1:1 mit einem PBS/BSA/Heparin – Puffer verdünnt. 4ml dieses bearbeiteten Blutes werden über 3ml Lympho-Separationsmedium (ICN, Aurora, Ohio USA) geschichtet und 20 min bei 1600 rpm zentifugiert. Der entstandene Lymphozytenring wird abgenommen und in Spitzenröhrchen übertragen. Ein PBS – Puffer wird dazu gegeben. Es erfolgt eine weitere Zentrifugation von 15 min bei 1000 rpm. Der Überstand wird abgegossen und mit ca. 150 µl PBS/BSA/Heparin – Puffer resuspendiert. 5 x 10^5 Zellen der gereinigten Lymphozyten werden unter Zugabe von 3ml RPMI, 15% FCS (foetal calf serum), 100 µl PHA und 15 mM BrdU für 24 h in Petrischalen kultiviert (37 Grad Celsius, 100% Luftfeuchtigkeit, 5% CO2). Durch PHA werden sie zur Teilung angeregt. Es erfolgt die Bestrahlung mit einem Müller MG 150 Gerät (100kV, 10mA, 1mm Al – Filter und 31 cm Abstand). Die verabreichten Dosen liegen zwischen 50 cGy und 500 cGy bei 1,675 Gy/min. Das Medium wird für weitere 72 h kultiviert. Das BrdU, das in die DNA anstelle von Tymidin eingebaut worden ist, vermindert die Fluoreszenz von Hoechst 33258. Mit dem Durchflußzytometer lässt sich durch Gegenfärbung mit Ethidiumbromid der Anteil der Zellen im 2. Teilungszyklus bestimmen.

3.2.2.2.3. Antioxidative Kapazität

Ionisierende Strahlung schädigt Zellen und Gewebe, indem sie Radikale und angeregte Molekülzustände erzeugt. Dies geschieht sowohl im intrazellulären als auch im extrazellulären Raum. Werden die entstandenen Radikale durch Antioxidantien abgefangen, kann die Schädigung der DNA verringert werden. Antioxidativ wirkende Substanzen werden vom Organismus dazu verwendet, die Radikale des Sauerstoffs unschädlich zu machen, die durch den oxidativen Stoffwechsel des Körpers ununterbrochen anfallen. Es wird vermutet, dass täglich ca. 10000 oxidative Schädigungen durch die natürlichen Sauerstoffradikale des Körpers erzeugt werden. Dabei handelt es sich um somatische Mutationen, die eine Funktionsstörung oder einen Funktionsverlust wie z.B. kardiovaskuläre Erkrankungen, Störungen des Immunsystems, zerebrale Dysfunktionen oder Katarakt zur Folge haben können. Außerdem können durch DNA-Schädigungen Malignome entstehen. Es wird deutlich, dass hohe Leistungsanforderungen an die Schutzsysteme des Körpers gestellt werden. Die Gesamtheit der Schutzsysteme wird als antioxidative Kapazität oder TRAP (total radical-trapping antioxidant parameter) bezeichnet.

Ein großer Teil der antioxidativen Schutzsysteme sind nicht an Strukturen gebunden, z.B. an biologische Membranen, sondern in Körperflüssigkeiten wie dem Blutserum gelöst. Daher stellt die extrazelluläre antioxidative Kapazität des Serums einen repräsentativen Anteil der

antioxidativen Gesamtkapazität dar. Der Vorteil besteht in der einfacheren Messbarkeit, als es bei strukturgebundenen Systemen der Fall ist. Es wird bei der Messung der antioxidativen Kapazität nicht jede einzelne der im Serum gelösten Komponenten gemessen, sondern der Integralwert der gesamten extrazellulären Antioxidantien (Severin, 1998). Es gibt verschiedene TRAP-Methoden, unter denen diejenigen, die mit wasserlöslichen Azoverbindungen arbeiten, am geläufigsten sind, z.B. ABAP oder ABTS. In den Azoverbindungen entstehen durch partielle Reduktion gefärbte Radikal-Kationen, die spektralphotometrisch nachgewiesen werden können. In dieser Studie wurde die ABTS-Methode nach dem Protokoll von Rice-Evans/Miller und die TPTZ-Methode nach Benzie/Stran durchgeführt.

Bei der ABTS-Methode wird eine 7 millimolare wasserlösliche Azoverbindung ABTS (2,2`-Azino-bis(3-ethylbenz-thiazolin-6-sulfonsäure) verwendet, die zusammen mit 2,45 mM Kaliumpersulfat ein relativ stabiles blaues Radikal produziert. Dessen Farbintensität bei 734 nm wird bei 30 Grad Celsius mit PBS (phosphat-gepufferte NaCl-Lösung) auf eine Extinktion von 0,70 eingestellt. Zu 10 µl des zu testenden Serums wird 1 ml dieser Arbeitslösung gegeben, gemischt und nach genau 4 Minuten die Intensität abgelesen.

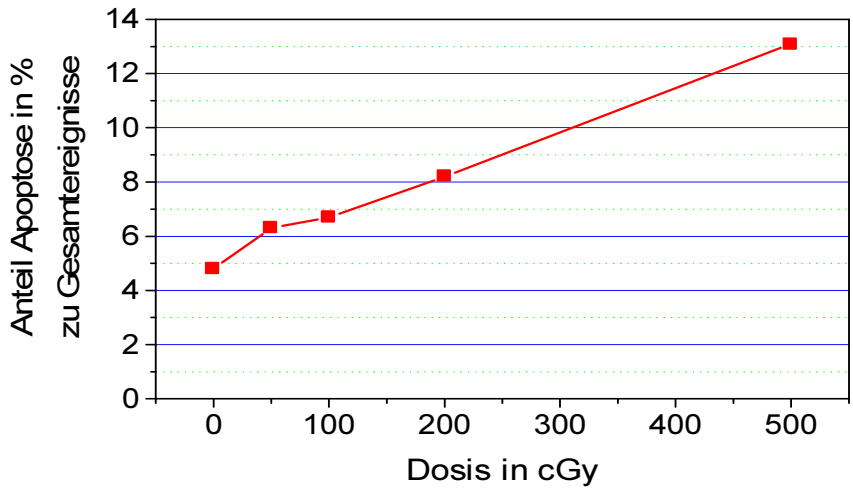
Bei der TPTZ-Methode wird 10mM TPTZ (Tripyridyl-s-triazin) verwendet, welches bei pH 3,6 mit dreiwertigem Eisen einen radikalischen Komplex bildet, dessen Eisen durch Antioxidantien in eine zweiwertige blaugefärbte Form reduziert wird. Zu 30 µl Serum wird 1 ml der Fe-TPTZ-Lösung gegeben, die Intensität wird bei 593 nm und 37 Grad Celsius nach 4 Minuten gemessen. Zur Standardisierung werden Troloxlösungen mit unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt (250, 500 und 1000 µl). In jedem Test wird die Extinktion mindestens dreimal gemessen.1000 µl stellten den Standardreferenzwert dar. Beim TPTZ-Test wird Eisensulfat (Fe2) als Kalibrierlösung verwendet (1000 µl). Dabei wird die TRAP als Differenz von Emission des Standards und Emission der Probe bestimmt.

3.2.2.2.4. Apoptose

Apoptose bedeutet „programmierter Zelltod“, „Zelluntergang“, der durch genetische Informationen der betroffenen Zelle selbst reguliert wird. Er wird unter anderem ausgelöst durch fortgeschrittenes Alter der Zelle, durch zytotoxische T-Lymphozyten im Rahmen der Immunantwort und durch Bestrahlung. Die strahlenbedingte Steigerung der Apoptoserate ist ein weiteres Maß für die Strahlenempfindlichkeit.

Eine einfache Messmethode beruht auf der Tatsache, dass im Rahmen des apoptotischen Zellabbaus der Gehalt an DNA im Zellkern abnimmt und der Gehalt an zerstörenden Proteine zunimmt. Entsprechend dieser Erkenntnis fügt man der Lymphozytenlösung einen Farbstoff zu, der DNA anfärbt (DAPI) und einen, der Protein-spezifisch färbt (z. B. Sulforhodamin).

Abb. 5: Dosis-Effekt Kurve der Apoptoserate bei einer Normalperson



Für eine durchflußzytometrische Messung wird jeweils eine Probe und eine Kontrolle mit 70 % (v/v) fixiert und über Nacht bei 4° C inkubiert, anschließend für 1 min mit Pepsinlösung behandelt und mit 2 ml DAPI-SR gefärbt. Ein kleiner Teil der fixierten Zellen wird für die mikroskopische Auswertung der Mikrokerne mit DAPI-Phosphat gefärbt und auf einen Objektträger gebracht, der Rest mit Hilfe des Durchflusszytometers quantifiziert. Entsprechend der MN-Messungen wird auf der einen Seite die Apoptosemessung in vitro und auf der anderen Seite direkt vorbereitet und die Ereignisse mit Hilfe des Durchflusszytometers quantifiziert, d.h. der Anteil der Lymphozyten bestimmt, bei dem bereits apoptotische Vorgänge nachweisbar sind.

3.2.3. Untersuchungen im humangenetischen Labor

3.2.3.1. Organisatorischer Ablauf

Auch im humangenetischen Labor trat das Problem von schlecht anwachsenden Zellen auf. Nachdem wir von einer empfindlichen Patientin keine Untersuchungsergebnisse erzielen konnten, weil trotz ausreichender Blutmenge keine 200 Zellen für eine Auswertung zur Verfügung standen, wurde beschlossen, in Zukunft sofort das fehlende Anwachsen zu melden und dann eine Wiederholung der Blutabnahme nur für dieses Teilprojekt zu erreichen, abhängig von der Zustimmung der PatientInnen. Dadurch fehlen jetzt nur die Werte einer Patientin bezüglich der Chromosomenbruchanalyse, bei fünf anderen konnte durch eine zweite Blutabnahme eine ausreichende Zahl von Zellen gewonnen werden. Da zu Beginn des Projekts noch methodische Details zwischen dem durchführenden Institut und dem BfS geklärt wurden, sind bei 2 Patienten auch Zellen im zweiten Teilungszyklus ausgewertet worden.

3.2.3.2. Durchführung der Analysen

Die Untersuchung der strahleninduzierten Chromosomen-Aberrationen erfolgte an Lymphozyten des peripheren Blutes. Diese wurden mittels Blutentnahme unter Verwendung von Lithium-Heparin-Monovetten (10ml; Sarstedt) gewonnen. Die Hälfte des gewonnen Materials wurde jeweils in der Klinik direkt bestrahlt, um Transportweg und Verzögerungen möglichst gering zu halten. Die Bestrahlung erfolgte am Telekobalttherapiegerät mit 2 Gy unter folgenden Bedingungen: 80 cm Abstand, einer 1 cm Vorschaltschicht aus Plexiglas; die Dosisleistung lag zwischen 1,409 Gy pro Minute (Oktober 2001) und 0,786 Gy pro Minute (Juni 2004) mit einer Energie von 1,22 MeV.

Das Blut wurde in sterile Spitzbodenröhrchen gegeben und über Nacht gekühlt. Am darauffolgenden Morgen wurden jeweils 3 Parallelkulturen mit je 1 ml Lymphozytengemisch für die unbestrahlte und ebenso für die mit 2 Gy bestrahlte Probe in 25 ml Zellkulturflaschen (Becton Dickinson) angesetzt, um in jedem Fall eine ausreichende Präparatequalität für die Auszählung von 200 Metaphasen zu erreichen. Hierzu wurde durch vorsichtiges Schwenken der Spitzbodenröhrchen die lymphozytenreiche Zellschicht (buffy coat) aufgewirbelt und aus dieser Zellschicht mit einer Spritze 2 ml Blut entnommen und auf zwei Kulturflaschen, die jeweils 10ml warmes(37°C) Kulturmedium enthielten, verteilt. Das HAM´S-F-10-Medium (Biochrom AG) war mit 20% fötalem Kälberserum (FBS; Biochrom AG), 1% Penicillin/Streptomycin (Biochrom AG) und 0,5% Glutamin (Biochrom Ag) versetzt . Im Anschluss wurde zu den Kulturen 15 Tropfen Phytohämagglutinin (PHA-L ; Biochrom AG) und 0,2% BrdU-Stammlösung (0,2ml; 6,4mg BrdU in 20ml aqua bidest gelöst) hinzugefügt. PHA ist ein Lektin aus Phaseolus vulgaris (gemeine Bohne). Es bewirkt spezifisch die Stimulierung differenzierter T-Lymphozyten aus der G0-Phase in den Zellzyklus. 5-Brom-2´-desoxyuridin(BrdU) ist ein Thymidinanalogon. Wird dieses den Zellen während der Zellkultivierung angeboten, wird es anstatt Thymidin in die DNA eingebaut.

Die Zellkulturflaschen wurden in Alufolie eingeschlagen und für 72 h bei 37°C in einem Brutschrank inkubiert. 72 h nach Stimulation durch PHA wurde den Kulturen 0,4ml Colcemid

(Gibco) zugegeben. Danach erfolgte eine weitere Inkubation von 2 h bei 37°C im Brutschrank. Colcemid ist die Produktbezeichnung des Wirkstoffs Colchicin. Das Spindelfasergift Colchicin ist ein Alkaloid der Herbstzeitlosen (Colchicum antumnale) oder der afrikanischen Ruhmeskrone (Glorisa superba). In der Teilungsphase werden die Schwesterchromatiden eines Chromosoms durch Microtubuli zu den entgegengesetzten Zellpolen bewegt. Colchicin greift in die GTP und Mg^{2+} regulierte Microtubulipolymerisation und Depolymerisation ein und verhindert damit die Trennung der Chromatiden, so dass die Zellen in der Metaphase angehalten werden und die Chromosomen intakt in der Äquatorialebene verbleiben.

Die Lymphozyten-Zellkulturen wurden in je 2 Spitzbodenröhrchen überführt und bei 1200 U/min und 20°C für 10 min zentrifugiert und anschließend der Überstand entfernt. Das Zellsediment wurde mit einer Pasteurpipette aufgewirbelt und durch Zugabe von 10 ml Hank´s-Salzlösung (Biochrom AG) gewaschen. Nach erneuter Zentrifugation bei 1200U/min 20°C für 10 min wurde wiederum der Überstand verworfen, um Serum und Reste des Mediums zu entfernen. Die Zellen wurden dann durch Zugabe von 0,075M KCL (Merck; vorgewärmt bei 37°C im Wasserbad) langsam hypotonisiert. Erneut wurden die Zellen in der Zentrifuge bei 1200U/min und 20°C für 10 min zentrifugiert und der Überstand entfernt. Dieser Arbeitsschritt wurde ein zweites Mal wiederholt. Die Behandlung der Zellen mit der hypotonen Salzlösung führt zur Lyse der Zellmembran und zur Freisetzung des Kernmaterials.

Die Fixierung und Konservierung der Zellen erfolgte mittels Methanol/Essigsäure (Roth) im Verhältnis 3:1, welches unter ständigem Vermischen tropfenweise auf die Zellen gegeben wurde. Dadurch wurde ein Verklumpen der Zellen bei der Fixierung verhindert. Anschließend wurden die Zellen bei 1200 U/min und 20°C erneut für 10 min zentrifugiert und der Überstand abgesaugt. Dieser Arbeitsschritt wurde so lange wiederholt, bis das Kernsediment weiß wurde und der Überstand klar, und dieser ein letztes Mal abgesaugt wurde. Das Sediment wurde mit Fixativ verdünnt, bis eine milchig trübe Suspension entstand. Für die Herstellung von lichtmikroskopisch auswertbaren Präparaten wurde ein Objektträger mit einem homogenen Wasserfilm (aqua dest.) bedeckt. Auf den waagerecht gehaltenen Objektträger wurde mit einer Pasteurpipette ein Tropfen der Zelluspension aufgegeben. Der Alkohol verdrängt den Wasserfilm, verteilt die hypotonisch vergrößerten Zellen auf dem Objektträger und bringt sie aufgrund der Wechselwirkungen zwischen Alkohol und Wasser zum Platzen, so dass die Chromosomen auf dem Objektträger gespreizt werden. Mit dem Phasen-Kontrast-Objektiv (Leitz) wurde überprüft, ob die Zelldichte gut ist und gegebenenfalls wurde die Zellsuspension noch weiter mit Fixativ verdünnt oder aber, bei zu geringer Dichte, nochmals zentrifugiert und der Überstand abgesaugt. Die Zellsuspension wurde vollständig auf Objektträger aufgetragen und anschließend luftgetrocknet und für 5 Tage dunkel gelagert. Die Präparate wurden dann nach dem Standardprotokoll der Fluoreszenz-plus-Giemsa Färbung gefärbt. Die gealterten Präparate wurden 12 min. in Hoechst N° 33258 (0,0125g in 250ml Aqua dest. gelöst; Sigma) gefärbt und danach in Aqua dest. gespült. Daraufhin wurden die Objektträger mit Hilfe einer Pasteurpipette mit PBS-Puffer(1:10 verdünnt mit aqua dest.; Gibco) überschichtet und mit einem Deckglas bedeckt. Die Präparate wurden 10 Minuten auf einer Wärmeplatte bei 60°C unter UV-Licht inkubiert. Die BrdU-substituierte DNA ist sehr lichtempfindlich. Mit dem UV-Licht tritt eine Photolyse der BrdU-substituierten DNA ein, dh. sie wird durch das Licht abgebaut und geht dann verloren.

Nachdem die Deckgläser in Aqua dest. abgespült wurden, wurden die Präparate 4 Minuten in einem 7% Giemsa-Phosphat-Puffer Gemisch (Merck) gefärbt. Die substituierten DNA-Stränge lassen sich durch den Verlust der DNA nicht so stark mit Giemsa-Farbstoff anfärben. Im zweiten Zellzyklus, d.h. bei der zweiten DNA-Synthese mit BrdU, liegt eine der beiden Chromatiden des Chromosoms bifilär BrdU-substituiert vor. Nach der Färbung erscheint eine Chromatide somit heller und lässt sich gut von den Chromosomen, die erst eine Synthesephase durchlaufen haben und einheitlich dunkel gefärbt sind, unterscheiden. Ausgewertet wurden nur die Zellen, die erst eine Synthesephase durchlaufen hatten. Anschließend wurden die Präparate in PBS-Puffer(1:10 verdünnt mit aqua dest.; Gibco) gespült und bei Raumtemperatur luftgetrocknet. Am

darauffolgenden Tag wurden die Präparate permanent in Eukitt (O. Kindler GmbH & Co) eingebettet. Durch die spezifische Anlagerung des Giemsa-Farbstoffes an die DNA erscheinen die Chromosomen violett/blau im Lichtmikroskop.

Die Auswertung der Chromosomenpräparate erfolgte an einem Lichtmikroskop unter der Verwendung einer Ölimmersion bei einer 1250-fachen Vergrößerung. Je Spender wurden 200 Metaphasen in der ersten Zellteilung der unbestrahlten sowie der mit 2 Gy bestrahlten Probe ausgewertet. Dokumentiert wurde die Anzahl von Ringchromosomen, di- und trizentrischen Chromosomen, Fragmenten, double minutes, Translokationen, Tetraploidien, Brüchen und Gap-Junctions. Trizentrische Chromosomen wurden separat gelistet und nicht als zwei dizentrische gezählt, Translokationen wurden gezählt, wenn sie offensichtlich waren, eine Bänderung war nicht zusätzlich durchgeführt worden und war auch nicht gefordert. Zwei Patienten wurden untersucht, bevor endgültig klar war, dass nur Zellen im ersten Teilungszyklus in der Analyse berücksichtigt werden sollen. Bei diesen beiden Patienten waren demnach in der Auszählung Zellen sowohl im ersten als auch im zweiten Teilungszyklus berücksichtigt worden. Die Zahl der Chromosomenaberrationen war in diesen beiden Fällen jedoch nicht besonders hoch, sodass hierdurch keine Abweichung begründet sein kann.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand

4.1 Wissensstand zu prädiktiven Analysen an Lymphozyten zum Zeitpunkt der Projektplanung

Zum Zeitpunkt der Projektplanung gab es eine große Zahl von Veröffentlichungen zu prädiktiven Tests an Fibroblasten und Lymphozyten. Diese zeigten an kleinen Kollektiven mehr oder weniger gute Korrelationen. Diese werden hier in der Übersicht zusammengefasst dargestellt.

Die Tatsache, dass bestimmte genetische Faktoren die individuelle Strahlenempfindlichkeit beeinflussen, wird von vielen Beobachtungen gestützt (Brock et al., 2000): die klinische Strahlenempfindlichkeit von Patienten mit bestimmten genetischen Syndromen, die auch in vitro exzessive Strahlenempfindlichkeit zeigen, ist eine davon (z.B. Dunst et al., 1998). Andere sind experimentelle Ergebnisse an verschiedenen Mäusearten und die Summe der beschriebenen Fälle mit nachgewiesenem Zusammenhang (Rached et al., 1998; Rogers et al., 2000). Ein häufig diskutierter Aspekt ist auch das gehäufte Auftreten starker Nebenwirkungen an verschiedenen Endzellen bei einzelnen Patienten; dies ist ein weiteres Argument für die genetische Disposition und gegen die Theorie, dass innerhalb eines mit einer definierten Therapie behandelten Kollektivs die schweren Nebenwirkungen zufällig auftreten (Rogers et al., 2002). Eine offene Frage ist noch der Zusammenhang zwischen genetischer Disposition für Nebenwirkungen und bestimmte Tumorerkrankungen (Scott et al., 2000, Rogers et al., 2000).

Die Suche nach dem einen prädiktiven Test wurde von Peters 1989 als „the holy grail of radiation biology“ bezeichnet, und viele Arbeitsgruppen beschäftigten sich damit. In einer frühen Übersichtsarbeit von West et al. (1995) wird auf die unterschiedliche Strahlenempfindlichkeit von Tumorzellen hingewiesen (z.B. Fertil et al., 1981) und versucht, den Bogen zum Normalgewebe zu schlagen. Dabei werden viele der zahlreichen kleinen Arbeiten (mit wenigen Patienten oder Probanden) zitiert. Es wird postuliert, dass bestimmte Zellen möglicherweise für bestimmte Normalgewebsreaktionen eine Vorhersage erlauben – also die Strahlenempfindlichkeit von Fibroblasten für die Fibrose prädiktiv sein könnte. Außerdem wird auf die hohe Prävalenz von AT-Heterozygoten im Kollektiv der Patientinnen mit Mamma-Karzinom hingewiesen, hier und an anderer Stelle (Ramsay et al., 1995) wird diese mit 16% angegeben. Bereits in dieser Arbeit, wie auch an vielen anderen Stellen, wird auf den Vorteil von Lymphozyten gegenüber Fibroblasten hingewiesen, der hauptsächlich darin besteht, dass sie nicht-invasiv entnommen werden und direkt in ausreichender Zahl zur Verfügung stehen. Es findet sich die Aussage, dass die Strahlenempfindlichkeit der Lymphozyten stärker von exogenen Faktoren beeinflusst wird,

wofür sie allerdings nur eine Quelle zitieren kann, die ihrerseits nur eine geringe Patientenzahl aufweist.

Frühere Arbeiten sehen den Stellenwert von Lymphozyten als gering an (Budach, 1998). Ältere Arbeiten betonen eher den Stellenwert von Fibroblasten, allerdings häufig an kleinen Kollektiven (z.B. Burnet et al., 1994, Geara et al., 1993) und mit zum Teil fraglichem Aussagewert. Später rückten Lymphozyten mehr in den Vordergrund, allerdings auch hier mit gemischten, widersprüchlichen Ergebnisse. Slonina et al. (2000) fanden mittels Mikronukleus-Test keine Korrelation von klinischer Empfindlichkeit und Testergebnis in einem gemischten Kollektiv sowie keine Korrelation der Ergebnisse von Lymphozyten und Fibroblasten eines Patienten. Auch Barber (2000) fand keine Korrelation von Mikronukleus- und G2-Assay mit der klinischen Strahlenreaktion, wobei in dieser Arbeit die Klassifikation der Nebenwirkungen und die Einteilung in empfindlich – normal nicht ausreichend präzis durchgeführt wurde.

Es gab zum Zeitpunkt des Projektbeginns bereits einige Arbeiten, die sich mit dem theoretischen Nutzen beschäftigten, den die Vorhersage der erhöhten individuellen Strahlenempfindlichkeit haben kann, wenn sie mit ausreichender Sicherheit geschieht. Tucker et al. (1996) berechneten ein deutliches Dosisinkrement in Abhängigkeit vom Testergebnis, das Modell beruhte auf eigenen Ergebnissen mit 26 Patienten. Mackay et al. (1999) sehen die Möglichkeit einer Verbesserten Tumorkontrollwahrscheinlichkeit von bis zu 30% bei einem einigermaßen zuverlässigen Test (in ihrem Falle der SF2 bei Fibroblasten). Dagegen berechnet Bentzen (1997) aufgrund der normalen therapeutischen Breite und der Steilheit normaler Dosis-Effekt-Kurven einen geringen Nutzen, der eigentlich nur darin besteht, empfindliche Patienten eher nicht in aggressive, dosisintensivierte Therapieprotokolle einzubringen, sie aber dafür ggf. eher mit teuren zytoprotektiven Substanzen zu behandeln. Er hebt in dieser Zusammenstellung noch einmal den Unterschied verschiedener Endzellen und Zielzellen hervor und die niedrige Prävalenz von empfindlichen Patienten, die in seinem Kollektiv mit ca. 0,6 bis 1,4% der Patientinnen mit Mamma-Ca- angegeben wird. Bei Scott et al. (2000) findet sich die Angabe von 7% Prävalenz strahlenempfindlicher Patienten im unsortierten Kollektiv. Die meisten anderen Arbeiten stellen sich der Frage nach der Prävalenz nicht; häufig ist auch die Beschreibung der Auswahl des Kollektivs sehr oberflächlich.

4.2 Bekannte Konstruktionen, Verfahren und Schutzrechte

Im Teil 3.2 wurde bereits ausführlich auf den Wissensstand zu den einzelnen Untersuchungsverfahren eingegangen und die Literatur zu den Methoden genannt. Alle verwendeten Geräte und Verfahren sind etablierte Methoden der Analyse von Lymphozyten im Labor. Eine Entwicklung neuer Methoden und / oder Geräte war nicht Bestandteil des Projektes. Die im Labor eingesetzten Geräte und Reagenzien wurden jeweils bei der Methode beschrieben.

Die Statistik aller gezeigten Auswertungen wurde mit dem Programm Statistical Analysis Systems (SAS) der Firma SAS Inc. (USA) in der Version 08 durchgeführt.

4.3 verwendete Fachliteratur, Informationsdienste, Dokumentationsdienste

Ein Überblick über die Literatur, die für die Planung und Durchführung sowie die abschließende Diskussion des Projektes eingesetzt wurde, findet sich im Literaturverzeichnis. Die Fachliteratur wurde regelmäßig über medline gesucht und aus der Zweigbibliothek Medizin des UKM besorgt. Zusätzliche Informationsdienste wurden nicht benutzt.

Die Klassifikation der Nebenwirkungen beruht auf dem System der RTOG/EORTC für die akuten und späten Nebenwirkungen (Seegenschmiedt, 1998). Dabei wurde für die späten Nebenwirkungen die Erfassung um einige Aspekte der LENT-SOMA Klassifikation erweitert, da

insbesondere späte Hautreaktionen in der RTOG/EORTC-Klassifikation nur ungenau abgebildet werden (Höller et al., 2003).

Es wurden einige bisher nicht veröffentlichte Messergebnisse aus dem eigenen Labor zur Bewertung herangezogen, wo dies sinnvoll ist wird darauf hingewiesen.

5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Der wissenschaftliche Austausch mit anderen strahlenbiologischen Labors (überwiegend die Arbeitsgruppen von Prof. Dikomey/Hamburg und Prof. Dörr/Dresden) erfolgte durch persönliche Kontakte und auf wissenschaftlichen Kongressen. Zur Aneignung der Methode zur Darstellung später Nebenwirkungen erfolge eine Zusammenarbeit mit Prof. Jung/Hamburg. Auch durch die Präsentation des Konzeptes und unserer ersten Ergebnisse auf strahlenbiologischen Symposien der DEGRO und ESTRO wurde der Austausch angeregt. Eine Notwendigkeit zur Änderung unseres Vorgehens ergab sich dadurch nicht. Innerhalb der kooperierenden Abteilungen wurde durch regelmäßige Sitzungen die Zusammenarbeit intensiviert. Regelmäßig wurden auch Besprechungen mit dem KKS durchgeführt, um bezüglich der statistischen Verfahren eine ständige Kontrolle zu haben und gemeinsam neue Ideen zu entwickeln.

Teil II Eingehende Darstellung der Ergebnisse

1. Erzielte Ergebnisse

1.1. Ergebnisse der Patienten im Screening

Hier werden die Daten aller Patienten gezeigt, die im genannten Zeitraum in unserer Abteilung im Bereich von Brust oder Mundhöhle bestrahlt wurden. Dies dient dazu, zum einen den Einfluss von Risikofaktoren auf die Ausprägung der Strahlenreaktion auszuleuchten; dadurch können diese Faktoren beim matching für die Gruppe der Empfindlichen (E) und gematchten unempfindlichen (U) berücksichtigt werden. Weiterhin kann so überprüft werden, dass die Patienten im Subkollektiv des Projekts für die Gesamtgruppe der Patienten repräsentativ sind.

1.1.1. Basisstatistik

Diese Auflistung dient der Darstellung des Gesamtkollektivs bezüglich seiner klinischen Parameter; diese erfolgt zum einen generell für alle Patienten und dann erneut getrennt nach Tumorart. Eine identische Darstellung findet sich jeweils den Subgruppenanalysen vorgeschaltet (Patienten mit MN-direkt Analyse, Patienten im eigentlichen Kollektiv von empfindlichen und gematchten Patienten). Diese Auflistung ermöglicht es dem Betrachter, die Ausprägung einzelner Einflussfaktoren auch dort wiederzufinden, wo sie möglicherweise bei unseren Auswertungen nicht berücksichtigt wurden oder die Häufigkeit des Auftretens dieser Faktoren rasch zu finden.

1.1.1.1. Basisstatistik im Gesamtkollektiv

In der Gesamtgruppe von 541 Patienten lag das mediane Alter bei 59 Jahren (range 30 bis 92 Jahre). Der Anteil der Patienten über 60 lag bei 48%, der Anteil der Patienten über 70 Jahre bei 16%. 132 Patienten (24,4%) waren männlich, 174 Patienten (32,6%) wurden im Kopf-Hals-Bereich bestrahlt. Insgesamt handelte es sich in 7% um eine Behandlung im Rezidiv, wobei 21 Patienten (3,9%) an anderer Stelle vorbestrahlt waren, weitere 6 Pat. (1,1%) in der gleichen Region. Der Allgemeinzustand der Patienten wurde mittels Karnofsky-Index (KI) erfasst. Viele Patienten hatten einen sehr guten (KI 100 in 69,1%) bzw. guten Allgemeinzustand (KI 90 in 23,8%). KI 80 wurde bei 5,4% der Patienten festgestellt, 1,4% hatten KI 70 und weitere 0,4% (n=2) KI 60.

Insgesamt gaben 93 Patienten (17%) an, während der Bestrahlung weiterhin zu rauchen, weitere 81 (15%) gaben an, vor der Bestrahlung im Rahmen der Tumordiagnose damit aufgehört zu haben. Die übrigen 367 (68%) hatten nie geraucht oder schon vor Jahren damit aufgehört. Einen Alkoholkonsum gaben 222 Patienten (41%) an; bei offensichtlichen Falschangaben wurde vom Arzt der Alkoholkonsum festgehalten. Dabei wurde bei 15,3% dieser Subgruppe ein häufiger und bei 84,7% ein seltener Alkoholkonsum angegeben. Die konsumierten Alkoholika wurden von 212 Patienten erfasst (alleinig Patientenangaben), überwiegend wurde Wein oder Sekt angegeben (60%), deutlicher seltener Bier (39%) oder Schnaps (n=3,1%). Eine normale Befindlichkeit wurde bei 342 (59,9%) Patienten festgehalten, eine leichte Einschränkung (s. 1.1.1, Kategorie 2, 158 Patienten, oder 3, 54 Patienten) wurde bei 212 Patienten (39,2%) dokumentiert. Bei 3 Patienten fehlte die Angabe, 2 Patienten wurden als instabil (Kategorie 4) eingestuft. Eine normale Beziehungssituation wurde bei 413 (76,5%) Patienten dokumentiert, eine erschwerte Situation (Kategorie 2, 93 Patienten, oder 3, 28 Patienten) bei 121 Patienten (22,4%). Extrem problematisch war die private Situation von 3 Patienten (0,6%).

Eine Antibiose in den 14 Tagen vor Therapiebeginn hatten 7,2% der Patienten erhalten. 51,9% der Patienten erhielten keine Chemotherapie, bei 196 (36,2%) Patienten wurde sie sequentiell durchgeführt, bei 12 Patienten sequentiell und simultan und bei 52 (9,6%) Patienten simultan. Die Details zur Chemotherapie finden sich in den tumorspezifischen Abschnitten.

Ein Hypertonus lag bei 26% der Patienten vor, eine KHK bei 4,8%, Rhythmusstörungen bei 7% und andere Herzerkrankungen bei 4%. Eine COPD hatten 4,1%, andere Lungenerkrankungen 3,5%, Erkrankungen des Nervensystems 8,9%, Knochen/Gelenkserkrankungen 16,5% und einen Diabetes 5,4%. Erkrankungen im Magen-Darm Bereich kamen in 8,7% vor. 16 (3%) hatten eine pAVK, eine Schilddrüsenerkrankung 13,5%. Selten waren Erkrankungen des Auges (2,2%), des Blutes (2,6%), der Haut (2,6%), des Urogenitalsystems (2%) oder des Immunsystems vor. Diabetes hatten 5% der Patienten, andere Stoffwechselerkrankungen kamen bei 5,3% der Patienten vor. 8,3% Patienten hatten bereits früher einen bösartigen Tumor.

Bei der Medikamenteneinnahme wurden folgende Kategorien beurteilt: Herzmedikamente (29,9%), Diuretika (6,8%), Mukolytika (3,7%), Bronchospasmolytika (4,2%), NSAID (13,9%), nicht-opioide Schmerzmittel (5,5%), Opioide (1,3%), Steroide (2%), Magenmedikamente (10,9%), Antidiabetika (2,6%), SD-Hormone (14,2%), Vitamine/Elektrolyte (19%), Pflanzliche Mittel (10,9%), Antidepressiva (2%), andere neurologische Medikamente (7,9%), homöopathische Mittel (4,1%), Stoffwechselmedikamente (11,6%), Gerinnungshemmer (5%), Enzyme (1,5%) und andere Medikamente (6,6%).

Weiterhin gibt es einige klinische Eigenschaften, die sich sinnvoll nur getrennt nach Tumorentität darstellen lassen. Einige Basisdaten werden, getrennt nach Tumorlokalisation, im Abschnitt 1.3. wiederholt, um als Referenzkollektiv für die 60 Patienten im Subkollektiv zu dienen.

1.1.1.2. Ergänzende Angaben zu den Patienten mit Brustbestrahlung

Im folgenden ist die Rede von 367 Patientinnen, wobei die beiden Männer mit Mamma-Ca ebenfalls gemeint sind. Der BMI zeigte in 8 (2,2%) ein Untergewicht an, ein extremes Übergewicht lag bei 57 (15,5%) der Patientinnen vor. Eine Vorbestrahlung war bei 25 Patientinnen (6,8%) dieser Gruppe durchgeführt worden, dabei war es in 6 Fällen (1,6%) die gleiche Region gewesen. Eine Chemotherapie war bei 221 (60,2%) Patientinnen erfolgt, sequentiell bei 195 Patientinnen, simultan bei 14 und sowohl simultan als auch sequentiell bei 12. Die verwendeten Substanzen waren bei 153 (41,7% von der Gesamtgruppe) Fällen EC, in 69 (18,8%) Fällen CMF. 11 Patientinnen waren mit einer Taxol-haltigen Kombination behandelt, 3 mit ETC, 11 mit AC, 1 mit MTX und 1 mit Epirubicin mono, wobei auch hier

Mehrfachnennungen möglich waren. Eine Antihormontherapie erhielten 171 (46,6%) der Patientinnen, überwiegend (152, 41,4% der Gesamtgruppe) mit Tamoxifen.

Bei 190 (51,7%) Frauen wurde die rechte Brust behandelt, bei 181 (49,3%) die linke Brust, insgesamt waren es 4 Fälle mit beidseitigem simultanem Befall. Nicht operiert waren 4 Patientinnen, bei 250 (68,1%) erfolgte die Bestrahlung nach brusterhaltender Operation, 113 (30,8%) hatten eine Ablatio erhalten. Eine ipsilaterale Lymphknotendissektion war in 352 Fällen durchgeführt worden (96%), in 15 Fällen nicht. Die Mehrzahl der Patientinnen war R0-reseziert (340, 92,6%), ein kleiner Anteil inkomplett (R1: 20 Pat.=5,5%, R2 2 Pat.=0,5%). Nur eine PE war bei 5 Patientinnen erfolgt (1,4%). Eine Serompunktion postoperativ war bei 30 (8,2%) der Patientinnen nötig.

Bezüglich des T-Stadiums waren 13 (3,5%) Patientinnen im Stadium cis, 180 (49%) Patientinnen im Stadium I, 123 (33,5%) im Stadium II, 27 (7,4%) im Stadium III und 20 (5,5%) Patientinnen im Stadium IV, ein unbekanntes Stadium bezüglich des Primärtumors mit Tx kam bei 4 (1,1%) Patientinnen vor. Nodal negativ waren 203 (55,3%) Patientinnen, nodal positiv 164 (44,7%). 15 (4,9%) der Patientinnen hatten Fernmetastasen. Histologisch handelte es sich in 219 (59,6%) der Fälle um ein invasiv-ductales Karzinom, in 62 (16,9%) um ein invasiv-lobuläres Karzinom, ein tubuläres Karzinom in 19 (5,2%) Fällen, ein szirrhöses Karzinom in 5 (1,4%) Fällen und ein medulläres Karzinom in 4 (1,1%) Fällen. Jeweils eine (0,3%) Patientin wurde wegen Adenokarzinom und Sarkom bestrahlt. 56 Patientinnen (15,2%) wiesen eine Mischhistologie auf. Der Differenzierungsgrad war mit I und II angegeben in 268 (73%) Fällen, mit III und IV bei 99 (27%) Fällen.

Die Strahlentherapie erfolgte in 353 (96,2%) Fällen adjuvant, in 13 (3,5%) Fällen palliativ und bei einer Patientin (0,3%) primär kurativ (histologisch ein Sarkom). Die Einzeldosis betrug einmal (0,3%) 3 Gy, zweimal (0,6%) 1,8 Gy und in den übrigen Fällen (364, 99,1%) 2 Gy pro Tag. Die Patientin mit 3 Gy Einzeldosis wurde bis 42 Gy Gesamtdosis bestrahlt; da dies in der biologischen Wirksamkeit den 50 Gy gleichzusetzen ist, wurde sie für weitere Analysen mit dieser Gruppe zusammengefasst. Gleiches gilt für die Bestrahlung mit 1,8 bis 50,4 Gy und mit 2 Gy pro Tag bis 52 Gy zum Ausgleich einer Therapieunterbrechung, wie sie in einem Fall erfolgte. Zusammen mit den 268 (73%) Patientinnen, die mit 2 Gy bis 50 Gy Gesamtdosis bestrahlt wurden besteht diese Gruppe aus 271 (73,8%) Patientinnen. 96 (26,2%) Patientinnen wurden höher dosiert bestrahlt, mit 60-70 Gy Gesamtdosis. Diese höhere Dosis resultiert aus einem Teletherapie-Boost bei 93 (25,3% des Gesamtkollektivs) Patientinnen, der entweder mit Kobalt (5 Pat.), Elektronen (5 Pat.), 15 MV Photonen (5 Pat.) oder mittels 6 MV Photonen (78 Pat.) durchgeführt wurde. Bei 29 Patientinnen war bereits intraoperativ ein boost von 15 Gy mit Elektronen appliziert worden; dieser wird im weiteren für das Zielorgan Haut nicht berücksichtigt, allerdings wird diese Patientinnengruppe bezüglich der Inzidenz der später Nebenwirkungen getrennt betrachtet. Die Bestrahlung der Brust erfolgte überwiegend mit 6 MV Photonen (230, 62,7%) oder einer Mischung aus 15 MV und 6 MV Photonen (120, 32,7%). Nur 15 MV Photonen wurden bei 10 (Patientinnen (2,7%) eingesetzt, eine Mischung mit Kobalt erfolgte in 2 Fällen (0,6%) und alleinig Kobalt wurde für die Bestrahlung von 5 Patientinnen (1,3%) eingesetzt. Eine Bestrahlung des Lymphabflusses erfolgte in 131 (35,7%) Fällen mittels Kobalt, in weiteren 27 (7,4%) Fällen mittels 6 MV Photonen.

1.1.1.3. Ergänzende Angaben zu den Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung

In dieser Gruppe befinden sich 174 Patienten. Der BMI zeigte in 16 (9,2%) ein Untergewicht an; ein ausgeprägtes Übergewicht fand sich bei 11 (6,3%) Patienten. Bei der Dokumentation der Tumorlokalisation wurde ein Mehretagentumor immer an jeder befallenen Region erfasst. 80 (46%) der Patienten hatten einen Mundhöhlentumor, 49 (28,2%) einen Befall des Oropharynx, 36 (20,7%) einen Befall des Hypopharynx. Kehlkopftumoren kamen bei 29 (16,7%) der Patienten

vor, Nasopharynxtumoren in 14 (8%) Fällen und Nasenhöhlentumoren in 15 (8,6%) Fällen. Sehr selten wurden Patienten mit Speicheldrüsentumor eingeschlossen (4 Patienten, 2,3%).

Ein Tracheostoma mit oder ohne Laryngektomie hatten 41 (23,6%) der Patienten. Bei 68 (39,1%) lag Inoperablität vor, sie hatten nur eine PE erhalten. Eine R2-Resektion war bei 7 (4%) Patienten erfolgt, eine R1-Resektion bei 41 (23,65) Patienten. Eine vollständige Resektion war bei 58 (33,3%) der Fälle durchgeführt worden. Im Rahmen der kurativen Operation erfolgte auch die Sanierung der Hals-Lymphknoten; in 98 (56,3) der Patienten erfolgte eine ipsilaterale Neck dissection, bei 42 (24,1%) Patienten eine Neck dissection oder eine Halsgefäßscheidenrevision kontralateral. Eine plastische Deckung von Weichteildefekten erfolgte bei 19 (11%) der Patienten.

Bezüglich des T-Stadiums waren 15 (8,6%) Patienten im Stadium I, 47 (27%) im Stadium II, 46 (26,4%) im Stadium III und 60 (34,5%) Patienten im Stadium IV, ein unbekanntes Stadium bezüglich des Primärtumors mit Tx kam bei 6 (3,5%) Patienten vor. Nodal negativ waren 61 (35,1%) Patienten, nodal positiv 113 (64,9%). 7 (4%) der Patienten hatten Fernmetastasen. Histologisch handelte es sich in 162 (93,1%) der Fälle um ein Plattenepithel-Karzinom, in 11 (6,3%) um ein Adenokarzinom, 1 Patient (0,6%%) wies eine Mischhistologie auf. Der Differenzierungsgrad war mit I und II angegeben in 118 (67,8%) Fällen, mit III und IV bei 56 (32,2%) Fällen.

Die Bestrahlung erfolgte abhängig von der Tumorsituation innerhalb verschiedener definierter Schemata. Dabei applizierten wir 60 Gy bei vollständiger Resektion eines Tumors oder bei palliativer Therapie, dies war bei 64 (36,8%) Patienten der Fall. Bei Patienten mit R1-Resektion, hohem Risiko (z.B. gr. Lymphknoten) oder ungewöhnlichem Tumorsitz (Nasopharynx) applizierten wir 66 bis 70 Gy; dies betraf 46 (26,4%) der Patienten. Primär inoperable Patienten in gutem Allgemeinzustand und ausreichender Funktion von Herz und Niere erhielten eine Therapie nach dem Wendt-Schema: Cisplatin und 5Fu an den Tagen 1-4, Bestrahlung an den Tagen 3 bis 9, dann Pause bis Tag 19, dann beginnend von vorn, insgesamt drei Zyklen bis zu einer Gesamtdosis von 70,2 Gy in der Primärtumorregion und 60 Gy in adjuvanten Arealen mit einer Feldteilung zur Rückenmarksschonung nach 30,2 Gy. Die Bestrahlung erfolgt hyperfraktioniert mit 2x1,8 Gy pro Tag, Nach diesem Therapieschema wurden 25 (14,4%) der Patienten behandelt. Patienten in einem schlechteren Allgemeinzustand oder einer eingeschränkten Herz- oder Nierenfunktion sowie einer Hörschädigung erhielten eine primär-kurative Therapie im concomitant-boost Schema. Dabei beginnt die Bestrahlung mit täglich 1,8 Gy über große Felder bis zur Feldteilung bei 32,4 Gy. Anschließend wurden morgens die geteilten, großen Felder weiter mit 1,8 Gy bestrahlt, am Nachmittag erfolgte nach mindestens 6 Stunden Intervall die Bestrahlung der boost-Felder mit 1,5 Gy Einzeldosis. Insgesamt wurden so 60 Gy in adjuvanten Arealen und 72 Gy in der Primärtumorregion erreicht. Dieses Therapieschema wurde bei 39 (22,4%) Patienten eingesetzt. 168 Patienten (96,5%) aller Therapieschemata wurden mit 45 Gy dosiert auf 5 cm Tiefe im Bereich des kaudalen Lymphabflusses bestrahlt; in 6 Fällen (3,5%) wurde darauf verzichtet.

Eine simultane Chemotherapie wurde bei 40 (23%) der 174 Patienten mit Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich durchgeführt, 40 Patienten erhielten Cisplatin, 24 erhielten zusätzlich 5-FU (im Wendt-Schema beide Substanzen). Alleinig Cisplatin wurde in der adjuvanten Situation mit hohem Risiko gegeben. Ebenfalls dokumentiert wurde die Bestrahlungstechnik. 72 (41,5%) der Patienten wurden alleinig mit Kobalt bestrahlt, die Retrofelder wurden mit Elektronen aufgesättigt. 29 (16,7%) der Patienten wurden dagegen alleinig mit 6 MV Photonen bestrahlt und bei 71 (41,8%) wurden gemischte Energien von Kobalt bis 15 MV eingesetzt. Der Lymphabfluss wurde bei der überwiegenden Zahl der Patienten (157, 90%) mit Kobalt bestrahlt, nur 11 Patienten (6,4%) wurden kaudal mit 6 MV Photonen bestrahlt, in 6 (3,6%) wurde der Lymphabfluss gar nicht bestrahlt. Ein Mundkeil wurde in 62 Fällen (35,6%) eingesetzt, um den harten Gaumen zu schonen.

1.1.2. Ausprägung der Nebenwirkungen

Alle Akutnebenwirkungen wurden wie geplant auf einem Standard-Bogen erfasst, dem die Klassifikation der RTOG/EORTC zugrunde liegt. Für die Spätnebenwirkungen wurde ebenfalls ein Standardbogen verwendet, hier wurden der RTOG/EORTC-Klassifikation für späte Nebenwirkungen einige Aspekte der LENT-SOMA-Klassifikation hinzugefügt, vor allem um die Hautreaktion bei Mamma-Ca differenzierter zu erfassen. Der hier berichteten maximalen Toxizität liegen diese Bögen zugrunde. Dabei ist es wichtig zu bedenken, dass der erste Wert des Bogens ein Ausgangsbefund ist; nicht jede berichtete maximale Toxizität ist auf die Bestrahlung zurückzuführen, eine ganze Reihe von Nebenwirkungen beruht auf der vorangegangenen Chirurgie. Da es jedoch unüblich ist, dies zu berücksichtigen, haben wir das hier auch nicht getan; eine spezielle Analyse wird später möglich sein, ist aber im Rahmen des Projektes nicht vorgesehen.

Die Akuttoxizität wird für alle erfassten Organe und systemischen Strahlenfolgen in der maximalen Ausprägung berichtet. Die Spättoxizität wir berichtet als die jeweils maximale Ausprägung der Nebenwirkungen, beginnend drei Monate nach Ende der Bestrahlung. Der Zeitpunkt der ersten Kontrolle nach 6 Wochen wird vernachlässigt, weil ansonsten frühe und späte Nebenwirkungen zu stark vermischt sind; die Beschwerden nach 6 Wochen bilden sich häufig im weiteren Verlauf noch zurück. Daten liegen nach dieser Definition für 198 Patientinnen mit Brustbestrahlung und 90 Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung vor.

1.1.2.1. Nebenwirkungen der Brustbestrahlung

1.1.2.1.1. Akut

Von den 367 Patientinnen mit Mamma-Ca wurde bei 194 (52,9%) keine Einschränkung des Allgemeinzustandes beschrieben. Bei 134 (36,5%) war der Allgemeinzustand leicht eingeschränkt (Karnofsky-Index [KI] 90%), bei 34 (9,2%) war er deutlich eingeschränkt (KI 80%) und bei nur 5 Patientinnen (1,4%) war er sehr deutlich eingeschränkt (KI 70%).

Die überwiegende Zahl der Patientinnen (283, 77,1%) hatten keine Beeinträchtigung an der Speicheldrüse, aber durch vorangegangene Chemotherapien war doch bei 70 Patientinnen (19%) eine Grad I Reaktion zu sehen (entsprechend der leichten Mundtrockenheit), bei 13 (3,5%) eine Grad II Nebenwirkung mit deutlicher Mundtrockenheit und eine Patientin (0,3%) klagte über eine ausgeprägte Mundtrockenheit. Manchmal gingen auch Schluckbeschwerden damit einher und waren bei 25 Patientinnen leicht (6,8%) und bei drei Patientinnen (0,8%) deutlich. Auch die Ernährung wurde davon beeinträchtigt, bei 25 (6,8%) leicht, bei dreien (0,8%) deutlich und bei 2 Patientinnen (0,5%) stark, sodass nur Flüssigkost möglich war. Bei diesen drei Patientinnen handelte es sich um solche, die im Mundbereich vorbehandelt waren.

Obwohl die Bestrahlung der Brustwand in der Regel keine Übelkeit auslöst beklagten 73 Patientinnen eine leichte Übelkeit Grad I (19,9%), 13 (3,5%) eine deutliche Übelkeit mit Einnahme von Antiemetika (Grad II) und 4 Patientinnen (1,1%)eine ausgeprägte Übelkeit, die mit 5-HT-3-Antagonisten behandelt werden musste. Nebenwirkungen am Larynx fanden sich mit leichter Grad I Heiserkeit bei 9 Patientinnen (2,5%), bei allen wurde das SIAx-Feld bestrahlt und somit eine Teildosis am Larynx erreicht. Eine Patientin (0,3%) beklagte fast völligen Stimmverlust mit Grad III am Larynx. Am ZNS kam es bei 21 Patientinnen (5,7%) zu leichten Beschwerden (Schwindel, Konzentrationsstörungen) Grad I, bei weiteren 2 Patientinnen (0,5%) zu etwas stärkeren Beschwerden Grad II. Nebenwirkungen am Auge waren mit Grad I leicht bei 10 Patientinnen (2,7%) und etwas stärker Grad II bei 2 Patientinnen (0,5%), hierbei handelte es sich um eine Folge der vorhergehenden Chemotherapie. 5 Patientinnen (1,4%) beklagten Nebenwirungen am Ohr Grad I.

Probleme mit dem Lymphabfluss im Sinne eines Lymphödems an Brust oder Arm beklagten 82 Patientinnen (22,3%) in einer leichten Form Grad I, weitere 26 (7,1) mit Grad II und deutlich ausgeprägt mit Grad III war das Lymphödem bei einer Patientin (0,3%). Auch Diarrhoe trat auf, allerdings nicht als radiogen bedingt, aber eben im Verlauf der Serie beobachtet: Grad I in 8 Fällen (2,2%), Grad II in 2 Fällen (,5%) und Grad III in einem Fall (0,3%).

Veränderungen der Lunge, erfasst als Dyspnoe und Hustenreiz, traten bei 40 Patientinnen (10,9%) in leichter Form (Grad I) auf, bei 10 Patientinnen (2,7%) Grad II und bei 1 Patientin (0,3%) Grad III. Auch Herzbeschwerden wurden beklagt, da die Strahlenreaktion des Herzens aber eine typische Spätreaktion ist, sind diese nur fraglich auf die Bestrahlung zurückzuführen. Leichte Veränderungen Grad I beklagten 21 Patientinnen (5,7%) und Grad II noch 5 Patientinnen (1,4%).

Eher im Rahmen der Bestrahlung als typische Nebenwirkung zu sehen ist die Fatigue. Maximal eine leichte Fatigue mit eingeschränkter körperlicher Belastbarkeit beklagten 199 Patientinnen (54,2%), eine deutliche Fatigue mit häufigen Ruhepausen immer noch 115 Patientinnen (31,3%), eine ausgeprägte Fatigue mit überwiegender Bettlägerigkeit 6 Patientinnen (1,6%) und eine Patientin (0,3%) war so massiv eingeschränkt, das die stationäre Aufnahme und Pflege notwendig war. Beim Vergleich von Ausgangswert zu Endwert stellten wir in einer früheren Analyse von 212 Patientinnen fest, dass die Verschlechterung im Verlauf der Therapie zum Ausgangswert signifikant ist. Der häufig postulierte Zusammenhang mit dem Hämoglobin wurde an unserem Kollektiv nicht gezeigt, weder für den Ausgangsbefund der Müdigkeit noch im Verlauf bei Betrachtung der maximalen Ausprägung der Müdigkeit spielte der Hb bei Therapiebeginn eine Rolle. Die Patientinnen mit einem Hb unter 11 litten bei Behandlungsbeginn nur selten an einer ausgeprägten Fatigue (1 von 7 mit starker Fatigue hatte einen niedrigen Hb-Wert).

Schmerzen gaben im Verlauf der Therapie 140 Patientinnen (38,9%) als leicht an (Grad I), deutliche Schmerzen mit der Notwendigkeit einer medikamentösen Therapie auf Stufe 1 des WHO-Schemas gaben 57 Patientinnen (15,8%) an und stärkere Schmerzen Grad III immerhin noch weitere 13 Patientinnen (3,6%). Hier fehlten die Angaben bei 7 Patientinnen. Geschmacksveränderungen beklagten 34 (12,5%) als leicht und 4 (1,5%) als deutlich Grad II, auch dies im Rahmen vorangegangener Chemotherapien.

Die Hautreaktion wurde für die Haut submammär, supraclavikulär, axillär und an der Fläche der Brust getrennt erfasst und die Häufigkeitsverteilung dazu finden sich in der folgenden Tabelle. Die Zusammenfassung aller Lokalisationen ergab eine maximale Hautreaktion als Grad 0 (keine Veränderung) bei 11 Patientinnen (3%), eine Rötung Grad I bei 228 Patientinnen (62,1%), eine Grad II Reaktion mit trockenen oder kleinen umschriebenen feuchten Epitheliolysen bei 107 Patientinnen (29,2%) und eine Grad III Reaktion mit konfluierenden feuchten Epitheliolysen in 21 Patientinnen (5,7%). Diese wurden nicht alle als strahlenempfindlich eingeschätzt, weil es bei manchen Risikofaktoren gab oder die offene Läsion als tumorbedingt bzw. Operationsfolge einzuschätzen war.

1.1.2.1.2. Spät

Die mediane Nachbeobachtungszeit für diese Gruppe liegt bei 245 Tagen (8 Monaten) und ist damit etwas kürzer als bei den Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung. In dieser Patientengruppe kommen viele Patienten trotz intensiver Aufklärung und wiederholten Aufforderungen nicht zur radioonkologischen Nachsorge. Viele empfinden die Nachsorge beim Gynäkologen als ausreichend und lehnen einen zusätzlichen Termin in der Strahlentherapie ab. Außerdem ist die Belastung durch radiogene Symptome in dieser Gruppe geringer als bei Kopf-Hals-Bestrahlung. Für Patientinnen, die nach Februar 04 ihre Strahlentherapie abschlossen, ist die

Nachbeobachtungszeit zu kurz, sie wurden hier nicht mit aufgenommen. Somit ist eine Langzeitbeurteilung (>3 Monate) möglich von 197 Patientinnen.

Im Vordergrund stehen hier die Nebenwirkungen an der Haut nach LENT-SOMA. Eine Pigmentierung Grad I fand sich bei 52 Patientinnen (26%) und Grad II bei 3 Patientinnen (1,5%). Eine Atrophie Grad I lag bei 24 Patientinnen (12%) vor, eine Atrophie Grad II bei 2 Patientinnen (1%) und Grad III bei 1 Patientin (0,5%). Eine Fibrose Grad I fand sich bei 102 (51%) der Patientinnen und Grad II bei 12 Patientinnen (6%). Teleangiektasien fanden sich in geringer Ausprägung als Grad I bei 78 Patientinnen (39%), Grad II bei 10 Patientinnen (5%) und Grad III bei 1 Patientin (0,5%). Eine Ulzeration Grad I (definiert als epidermales Ulkus) fand sich bei 3 Patientinnen (1,5%).

Ein mit Grad I geringes Lymphödem der Brust fand sich in 83 Fällen (42%), mit Grad II bei 14 Fällen (7%) und mit Grad III in einem Fall (0,5%). Am Arm hatten 29 Patientinnen (15%) ein Lymphödem Grad I, 9 Patientinnen (4,5%) ein Lymphödem Grad II und 2 Patientinnen (1%) Grad III. Schmerzen an Brust oder Narben wurden von 71 Patientinnen (36%) als leicht angegeben, von 15 Patientinnen (8%) als deutlich und von 1 Patientin (0,5%) als ausgeprägt.

Als Allgemeinsymptome wurde die Inzidenz von reduziertem Allgemeinzustand und Müdigkeit erfasst. Einen Karnofsky-Index von 90 hatten 89 Patientinnen (45%), einen KI von 80 hatten 13 Patientinnen (7%) und einen Karnofsky von 70 mit zeitweiliger Bettlägerigkeit hatte eine Patientin (0,5%). Eine leichte Fatigue hatten 57 Patientinnen (29%), eine deutliche Fatigue 19 Patientinnen (10%) und eine ausgeprägte Fatigue 1 Patientin (0,5%). Radiogene Lungenbeschwerden im Sinne einer klinisch relevanten Pneumonitis oder Fibrose fanden sich als Grad I bei 17 Patientinnen (8,9%), Grad II bei zwei Patientinnen (1%) und Grad III bei einer Patientin (0,5%). Leichte Herzbeschwerden Grad I äußerten 8 Patientinnen in der Nachsorge (4%),stärkere Herzbeschwerden Grad II und III fanden sich bei jeweils einer Patientin (0,5%). Anhaltende leichte Übelkeit beklagten 13 Patientinnen (6,6%). Eine Diarrhoe wurde von keiner Patientin beklagt.

1.1.2.2. Nebenwirkungen der Mundhöhlenbestrahlung

1.1.2.2.1. Akut

Bei den 174 Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung fand sich keine Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes bei 25 Patienten (14,4%), eine leichte Beeinträchtigung (KI 90%) bei 42 (24%), eine deutliche Beeinträchtigung (KI 80%) bei 67 (38,5%), überwiegende Hilfsbedürftigkeit (KI 70%) bei 37 (21,3% der Patienten und die stationäre Aufnahme mit Pflegebedürftigkeit war bei 3 Patienten (1,7%) gegeben. Weitere Patienten wurden stationär aufgenommen aus Gründen der Supportivtherapie, Ernährungsunterstützung und Schmerztherapie, waren aber noch in einem besseren Allgemeinzustand, sodass sie hier nicht genannt sind.

Die Schleimhaut wird unten getrennt abgehandelt; eine maximale Toxizität Grad 0 oder I an der Speicheldrüse kam bei 78 Patienten (44,8%) vor, Grad II bei 82 Patienten (47,1%), Grad III bei 14 (8%,1). Keine Beeinträchtigung des Geschmacks berichteten 20 Patienten (16,4%), eine leichte Geschmacksveränderung 27 (22,1%), eine deutliche Geschmacksveränderung 57 (46,7%) und einen vollständigen Geschmacksverlust 18 Patienten (14,8%). Leichte Schluckbeschwerden Grad I wurden bei 34 Patienten festgestellt (19,5%), deutliche Einschränkungen bei 70 Patienten (40,2%) und 57 Patienten (32,8%) hatten Schluckbeschwerden Grad III. Damit einher gingen die Veränderungen der Nahrungsaufnahme Grad 0 und I bei je 18 Patienten (10,3%), mit überwiegend Flüssigkost Grad II bei 65 Patienten (37,4%) und Grad III mit PEG bei 71 Patienten (40,8%). Weitere 2 Patienten (1,2%) hatten eine Umstellung auf ausschließliche intravenöse Ernährung.

Übelkeit wurde bei 45 Patienten (25,9%) als Grad I beschrieben, bei 25 Patienten (14,4%) als Grad II und 9 Patienten (5,2%) als Grad III. Sie kam überwiegend bei Patienten mit simultaner Chemotherapie vor. Veränderungen der Stimme kamen als geringe Heiserkeit bei 49 Patienten (30,4%) vor, als deutliche Heiserkeit Grad II bei 47 Patienten (29,2%) und bei 13 Patienten (8,1%) als Grad III mit vollständigem Stimmverlust. Die Patienten nach Tracheotomie wurden mit beurteilt bezüglich ihrer Stimmbänder, die nach Laryngektomie wurden hier nicht beurteilt (13 Pat.). Am ZNS wurde bei 11 Patienten (6,3%) eine Grad I Nebenwirkung festgestellt, bei 6 Patienten (3,5%) eine Grad II Reaktion und bei jeweils 1 Patienten (0,6%) eine Grad III und Grad IV Reaktion. Am Auge wurde eine Grad I Reaktion in 4 Patienten (2,3%) beschrieben, Grad II bei 5 Patienten (2,9%) und Grad III bei 3 Patienten (1,7%). Eine Grad IV Reaktion am Auge kam bei einem Patienten (0,6%) vor, bei dem Teile des Auges im Bestrahlungsfeld lagen. Am Ohr kam es zu einer Grad I Reaktion bei 13 Patienten (7,5%), Grad II bei 7 Patienten (4%) und Grad III bei 1 Patienten (0,6%). Damit ist nur die Reaktion im Gehörgang gemeint, die Hautreaktion des äußeren Ohres ist getrennt erfasst. Ein Lymphödem im Bereich des Kopfes wurde bei 47 Patienten (27%) als Grad I erfasst, bei 27 Patienten (15,5%) als Grad II und bei 7 Patienten (4%) als Grad III.

Auch andere Organreaktionen wurden erfasst, die nicht unbedingt in Zusammenhang mit der Bestrahlung zu sehen sind, aber möglicherweise durch die Kombination mit der Chemotherapie bedingt sind. Dazu gehörten Diarrhoe (Grad I bei 2 Patienten, 1,2%), Beschwerden an der Lunge (Grad I bei 3,5% und Grad II bei 1,7%) sowie Beschwerden am Herzen (Grad I bei 9 [5,2%] Patienten, Grad II bei 1 Patienten, 0,6%).

Eine leichte Fatigue im Sinne einer verringerten körperlichen Leistungsfähigkeit kam bei 70 Patienten (40,2%) vor, als deutliche Müdigkeit bei 69 Patienten (39,7%) und als überwiegende Bettlägerigkeit bei 12 Patienten (6,9%). Ein weiterer Patient war so erschöpft, dass eine stationäre Aufnahme erforderlich wurde. Ein Zusammenhang mit dem prätherapeutischen Hb-Wert findet sich hier nicht. Auch Schmerzen sind in diesem Patientengut ein relevantes Problem. Sie treten als leichte Schmerzen Grad I bei 36 Patienten auf (20,9%), als deutliche Schmerzen mit milden Analgetika bei 76 Patienten (44,2%) und als starke Schmerzen mit Morphinpflichtigkeit bei 46 Patienten (26,7%). Intravenöse und / oder hochdosierte Morphine erhielten bei Schmerzen Grad IV weitere 3 Patienten (1,7%).

Die Schleimhautveränderungen wurden an 12 Lokalisationen in der Mundhöhle getrennt erfasst. Eine maximale Schleimhautveränderung Grad 0 und I an allen Arealen fand sich bei 25 Patienten (14,4%), eine Grad II Reaktion als maximale Ausprägung bei 70 Patienten (40,2%) und eine Grad III Reaktion insgesamt bei 78 Patienten (44,8%). Fasst man die drei beurteilten Hautareale zusammen (Hals, Gesicht und Ohr), so kam es maximal zu einer Grad I Reaktion in 19 Fällen (10,9%), einer Grad II Reaktion in 105 Fällen (60,3%) und einer Grad III Reaktion in 50 Fällen (28,7%).

1.1.2.2.2. Spät

Die mediane Nachbeobachtungszeit 257 Tage (8,5 Monate). Das bessere relative Recall (ein größerer Anteil der Patienten kommt zur Nachsorge) wird im negativen Sinne ausgeglichen durch einen höheren Anteil von Patienten, die versterben oder durch ein Rezidiv aus der Beobachtung zu Spätfolgen ausscheiden. Informationen aus der Nachsorge >3 Monate liegen von 90 Patienten vor.

Eine Einschränkung des Allgemeinbefindens im Verlauf der Nachsorge berichten nur 30% der Patienten nicht. Bei 44 (49%) der Patienten ist es eine leichte Einschränkung (KI 90), bei 15 (16%) ist sie deutlich (KI 80) und bei 5 Patienten (5%) ausgeprägt (KI 70). Eine Fatigue Grad I hatten 25 Patienten (28%), Grad II hatten 10 Patienten (11%) und Grad III kam bei 2 Patienten vor (2%). Anhaltende Übelkeit berichten 5 Patienten (5%) als leicht und 1 Patient (1%) als Grad

II. Nebenwirkungen am Herzen wurden nicht angegeben. An der Lunge kam es in einem Fall (1%) zu einer leichten Reaktion, bei 2 Patienten (2%) zu einer Grad II Reaktion und bei einem Patienten (1%) zu einer Grad III Reaktion. Nebenwirkungen am ZNS traten einmal als Grad I und einmal als Grad III auf. Diarrhoe wurde nicht beschrieben.

Ein Patient hatte zunächst Grad II Nebenwirkungen am Auge und hat es nach 1 Jahr verloren (Grad IV). Ein weiterer Patient hatte eine anhaltende Grad I-Reaktion, die Übrigen Patienten keine Nebenwirkungen. Leichte Nebenwirkungen Grad I am Ohr traten bei 5 Patienten (5%) auf, Grad II Reaktionen bei weiteren 5 (5%) und ein Patient (1%) hatte eine Grad III Reaktion.

Die Ernährung war bei 29 Patienten (32%) etwas eingeschränkt, überwiegend weiche und flüssige Kost im Sinne einer Grad II Reaktion nahmen 26 Patienten (29%) zu sich und ausschließlich Flüssigkost benötigten 4 Patienten (4,5%). Weitere 4 Patienten (4,5%) konnten keine orale Nahrung zu sich nehmen und waren auf PEG bzw. intravenöse Ernährung angewiesen. Parallel hierzu sind die Nebenwirkungen am Ösophagus zu sehen. Hier wurde der Schweregrad in 38 Fällen (42%) mit Grad I angegeben, in 17 Fällen (19%) mit Grad II, in 5 Fällen (6%) mit Grad III und in einem (1%) Fall mit Grad IV. Ebenfalls in diese Gruppe fällt die Reaktion der Speicheldrüse. Diese war in 21 Fällen (23%) als Grad I angegeben, in 39 Fällen (43%) als Grad II und in 17 Fällen (19%) als Grad III.

Eine unauffällige Haut im gesamten Verlauf der Nachsorge gab es nur bei 9% der Patienten. Eine Grad I Reaktion fand sich bei 56 Patienten (62%), eine Grad II Reaktion bei 23 Patienten (27%) und eine Grad III Reaktion bei 2 Patienten (2%). An der Schleimhaut fand sich bei 40% der Patienten eine Grad I Reaktion (45%), bei 21 (23%) eine Grad II Reaktion und bei 1 (1%) eine Grad III Reaktion. Schmerzen wurden von 26 Patienten (29%) als leicht angegeben, von 10 Patienten (11%) als deutlich im Sinne einer Grad II Reaktion und von 7 Patienten (8%) als ausgeprägt im Sinne einer Grad III Reaktion.

Auch Veränderungen des Zahnstatus wurden erhoben. Eine Zahnextraktion erhielten 11 Patienten (12%), in ständiger zahnärztlicher Betreuung waren 7 Patienten (8%) und einen vollständigen Verlust aller Zähne, die zur Therapie noch vorhanden waren, erlitten 3 Patienten (3%).

1.1.2.3. Zusammenfassung der Nebenwirkungsinzidenz

Die Reduktion des Allgemeinzustandes ist ein Phänomen, dass häufig mit einer Bestrahlung in Verbindung gebracht wird. Allerdings ist in unserem Kollektiv schon bei Beginn der Bestrahlung eine Inzidenz des Allgemeinzustand von KI 80 oder schlechter in 7,2% der Patienten zu beobachten. Betrachtet man bei allen Patienten den im Rahmen der Therapie maximal schlechten Allgemeinzustand, so findet sich ein KI von 80 oder schlechter bei insgesamt 144 (26%), sodass es bei 18,5 % der Patienten zu einer Verschlechterung unter Therapie kam.

Bei Bestrahlung der Brust traten folgende III°/IV° Reaktionen akut auf: Übelkeit (1%), Lymphödem (0,3%), Fatigue (2%), Schmerzen (3,6%) und Haut (5,7%).

Bei den Spätnebenwirkungen der Brustbestrahlung findet sich mit Schweregrad III°/IV° Hautatrophie und Teleangiektasien (je 0,5%), außerdem Schmerzen an Brust oder Narbe (0,5%) und Herzbeschwerden (0,5%). Damit liegen die Werte deutlich unterhalb der allgemein akzeptierten Inzidenz von 5%, da in unserem Kollektiv jedoch die Nachbeobachtungszeit sehr kurz ist, sind diese Angaben nur eingeschränkt verwertbar.

Bei Bestrahlung der Mundhöhle gibt es wesentlich mehr Normalgewebe, die eine Grad III oder Grad IV Reaktion entwickeln. Konkret sind dies Schleimhaut (45%) und Haut (29%), Speicheldrüsen (8%), Schluckbeschwerden (33%), Ernährungsstörungen (42%), Larynx (8%), Geschmacksverlust (15%) und Übelkeit (5%). Schmerzen spielen eine wesentliche Rolle,

morphinpflichtige Schmerzen haben immerhin 28,5% der Patienten. Von geringerer Bedeutung sind ausgeprägte Reaktionen an ZNS (0,6%), Auge (2,3%), Ohr (0,6%) und Fatigue (7%). Ein Lymphödem Grad III kam bei 4% der Patienten vor. Insgesamt kann man sagen, dass die Therapie im Bereich der Mundhöhle die Patienten doch erheblich belastet und ausgeprägte Beschwerden an vielen Geweben auslöst.

Bei den Spätnebenwirkungen sind Grad III/IV-Reaktionen dennoch selten. So finden sich je 1% mit schweren Reaktionen an Auge und Ohr, 9% mit anhaltenden schweren Ernährungsstörungen und 7% mit ausgeprägten Schluckbeschwerden. 19% der Patienten haben anhaltend ausgeprägte Xerostomie. Haut und Schleimhaut (SH) erholen sich deutlicher und zeigen nur in 2% (Haut) bzw. 1% (SH) eine Grad III Reaktion. Anhaltend starke Schmerzen beklagen 8% der Patienten. Ein vollständiger Zahnverlust trat bei 3% der Patienten auf. Bei der Kopf-Hals-Bestrahlung wird dem Patienten somit eine Therapie angeboten, bei der an mehreren Organen die 5%-Inzidenzgrenze überschritten wird. Interessant wird es sein, hier die zeitliche Entwicklung zu sehen, wenn der Nachbeobachtungszeitraum länger wird.

1.1.3. Einflussfaktoren auf die Ausprägung akuter Nebenwirkungen

Bei dieser Analyse wurde die Dosis berücksichtigt, die ja als gegebener Faktor die Ausprägung der Haut- und Schleimhautreaktion beeinfluss. Bei fehlender Gruppierung nach der Dosis hätte der Einfluss klinischer Faktoren möglicherweise unterschätzt werden können. Die Überprüfung der Gruppenunterschiede erfolgte mittels chi-Quadrat-Test, bei weniger als 5 erwarteten Zählungen in einer Zelle wurde der Fisher's exact test zur Beurteilung herangezogen, dementsprechend sind die p-Werte angegeben. Hier sei noch einmal darauf hingewiesen, dass die angegebenen Signifikanzniveaus sich immer nur auf den einzelnen Vergleich beziehen. Im rahmen der hier durchgeführten explorativen Analyse muss in Betracht gezogen werden, dass immer eine Rate von 5% falsch positiven Signifikanztests zu erwarten ist.

1.1.3.1. Bei der Brustbestrahlung

Es folgen Gruppenvergleiche für alle Patientinnen mit Bestrahlung der Brust. Dabei wurde die Analyse getrennt durchgeführt in den verschiedenen Dosisgruppen (bis 52 Gy, mehr als 60 Gy) und eingeteilt in Grad 0 oder Grad I Hautreaktion im Vergleich mit Grad II oder III. Da die Gruppe der Patientinnen, die überhaupt eine Grad III Reaktion entwickelten, mit 21 sehr klein ist, hätte man sonst den Einfluss der vielen Faktoren nicht ausreichend sicher prüfen können.

Die Häufigkeit von Grad II/III-Hautreaktionen betrug in der niedrigen Dosisgruppe 24% und in der höheren Dosisgruppe 64%, dieser Unterschied ist mit einem p von <0,001 signifikant. Betrachtet man nur die Grad III Reaktion, so ist die Inzidenz in der niedrigen Dosisgruppe mit 3,7% deutlich geringer als in der höheren Dosisgruppe mit 11,5%.

In der niedrigen Dosisgruppe finden sich 7 empfindliche Patientinnen; definitionsgemäß haben diese alle (100%) eine II/III Hautreaktion und unterscheiden sich damit signifikant von der Gruppe der nicht empfindlichen mit einer Inzidenz von 22% (p<0,001). In der höheren Dosisgruppe finden sich nur 4 empfindliche Patientinnen, der Unterschied von 100% zu 63% erreicht daher keine statistische Signifikanz, ist aber dennoch eindeutig.

Das Alter (>60 und <60) hat keinen signifikanten Einfluss auf das Ausmaß der Hautreaktion; hier muss berücksichtigt werden, dass nur in der niedrigen Dosisgruppen altersgemischte Patienten sind, da der boost in der Regel nur bei Patientinnen unter 60 indiziert ist; die wenigen Patientinnen (n=11) über 60 mit einer höheren Gesamtdosis sind solche mit manifestem Tumor. Insgesamt gab es nur 3 Frauen, die sich nicht gut an die Pflegevorschriften hielten, ein Einfluss ist somit nicht zu bestimmen. Der Allgemeinzustand (ECOG 0 vs. ECOG 1) hat keinen Einfluss

auf das Ausmaß der Nebenwirkungen, ebenso wenig das T- oder N-Stadium der Erkrankung. Auch die tumortragende Seite spielt bei der Hautreaktion keine Rolle.

Um den Einfluss des Körpergewichts auf das Ausmaß der Hautreaktion zu analysieren, wurden die Patientinnen in 3 Gruppen eingeteilt: Gruppe 1 ist unter- oder normalgewichtig, Gruppe 2 hat leichtes bis deutliches Normalgewicht (BMI von bis) und Gruppe 3 ist stark übergewichtig oder extrem adipös (BMI von bis). Vergleicht man Gruppe 1 und 2 so findet sich eine signifikanter Unterschied in der Häufigkeit der stärkeren Hautreaktion (18% vs. 28%) mit einem p von 0,047 für die Gruppe unter 52 Gy. Gleiches gilt auch bei der höheren Dosis, hier ist die Inzidenz mit 52% vs. 77% deutlich höher, das p mit 0,015 noch deutlicher. Vergleicht man Gruppe 1 mit Gruppe 3, so wird dieser Unterschied noch deutlicher, es sind 18% vs. 44% in der niedrigen Dosisgruppe und 52 vs. 100% in der hohen Dosisgruppe; eine Signifikanz lässt sich aufgrund der kleinen Zahl von Patienten mit dem hohen BMI (n=9 bzw. 3) jedoch nicht nachweisen.

Frauen, die während der Bestrahlung rauchen, haben bei Bestrahlung mit der höheren Gesamtdosis ein signifikant höheres Risiko für eine deutliche Hautreaktion als Frauen, die nie geraucht haben. Alle anderen Analysen zeigen keinen Einfluss des Rauchverhaltens auf die Ausprägung der Hautreaktion; hier ist die Bedeutung des signifikanten Unterschiedes fraglich und muss mit Vorsicht betrachtet werden. Über 40% der Frauen gaben an, Alkohol zu trinken; dabei handelte es sich fast immer um ein gelegentliches Glas Wein, Sekt oder Bier. Auf die Ausprägung der Hautreaktion hat dies keinen Einfluss.

Sehr häufig von den Frauen selbst postuliert wird ein Zusammenhang zwischen Befindlichkeit oder problematischer Lebenssituation und der Tumorerkrankung, aber auch der Verträglichkeit der Behandlung („es liegt ja auch viel an der Einstellung und Unterstützung zu Hause“ wird sowohl im positiven Sinne als auch im negativen Sinne geäußert). Ein Einfluss auf die Hautreaktion ließ sich allerdings in unserem Kollektiv nicht nachweisen. Patientinnen mit Chemotherapie haben kein höheres Risiko für eine Hautreaktion unter Bestrahlung als solche ohne Chemotherapie. Auch bei Untersuchung des Einflusses im Vergleich der sequentiellen zur simultanen Durchführung findet sich in beiden Dosisgruppen kein Unterschied, wobei die Gruppe der Patientinnen mit simultaner Chemotherapie klein ist (12 bzw. 2 in niedriger u. hoher Dosisgruppe).

Untersucht wurde auch der Einfluss von Komorbiditäten auf die Akutreaktion. Diabetes, Hypertonus, Knochen- und Gelenkserkrankungen, Magen-Darm-Erkrankungen und Dysfunktion der Schilddrüse haben keinen Einfluss. Untersucht wurde auch der Einfluss einer eingeschränkten Funktion der Leber (nicht signifikant) und der Niere (nicht signifikant) auf die Ausprägung der Hautreaktion. Sie ist weiterhin unabhängig vom Hämoglobinwert (Hb <11 vs. >11). Auch die Einnahme von Medikamenten der Gruppe Herzmittel, NSAID, Steroide, Vitamine/Elektrolyte, pflanzliche Mittel und Stoffwechselmedikation beeinflussen die Strahlenreaktion nicht. Bei Einnahme von Magenmedikamenten zeigt sich in der höheren Dosisgruppe eine signifikant höhere Rate von deutlichen Hautreaktionen (100% vs. 60% - p=0,007), allerdings bei nur 12 Patientinnen, die diese Mittel einnehmen. Da ein solcher Zusammenhang noch nie gezeigt wurde und in der größeren Gruppe mit niedriger Bestrahlungsdosis (n=23 mit Einnahme der Medikamente, Inzidenz der Hautreaktion 34% vs. 23%), ist dieses Ergebnis sehr fraglich.

Der Resektionsstatus hat keinen Einfluss auf die Nebenwirkungsrate, wenn nach Dosis gruppiert wird. Beim Vergleich einer Bestrahlung mit Kobaltgerät (allein oder in Mischtechnik mit 6 oder 15 MV Photonen) zu einer Bestrahlung nur mit 6 u/o 15 MV Photonen findet sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied der Inzidenz einer Grad II oder III Hautreaktion. Auch ob nach ICRU oder auf die 90% Isodose dosiert wird macht innerhalb der Dosisgruppen keinen Unterschied.

Die Einnahme einer antihormonellen Medikation führt nicht zu einer vermehrten Inzidenz der höhergradigen Hautreaktion; in der höheren Dosisgruppe ist der Unterschied fast andersherum

signifikant (mit 54%, ohne 72%, p=0,068). In der niedrigen Dosisgruppe für die Teletherapie finden sich 29 Patientinnen (11%) mit einer IORT; diese haben etwas mehr stärkere Hautreaktionen (38 vs. 23%, p=0,071). Betrachtet man die Patientinnen mit höherer Gesamtdosis, so spielt die Energie des boostes (6 MV vs. andere) keine Rolle.

1.1.3.2. Bei der Mundhöhlenbestrahlung

Hier folgen Gruppenvergleiche für die Patienten, die bis zu einer Dosis von 66 Gy bestrahlt wurden, was immer mit einer konventionellen Fraktionierung erfolgte. Die zweite Gruppe von Patienten wurde ganz oder für die Hälfte der Dosis hyperfraktioniert bestrahlt und umfasst die Patienten im Wendt- oder concomitant-boost-Protokoll. Patienten mit höher dosierter konventioneller Bestrahlung (n=4) wurden zur Homogenisierung des Kollektivs hier ausgenommen. Endpunkt war jeweils die Inzidenz der Grad III Schleimhautreaktion als maximale Reaktion im Verlauf der Serie. Der überwiegende Teil der Ergebnisse war in beiden Gruppen gleich; wo Einflussfaktoren unterschiedlich zum Tragen kamen, erfolgt eine Abwägung möglicher Ursachen dafür.

Vergleicht man vor Gruppenunterteilung nach Dosis die Inzidenz der Grad III Mukositis, so findet sich in der niedrigen Dosisgruppen eine Inzidenz von 37% und in der höheren Dosisgruppe von 60%, dieser Unterschied ist mit einem p von 0,003 signifikant.

Unterteilt nach klinischer Empfindlichkeit findet sich für die Patienten in der Dosisgruppe bis 66 Gy konventioneller Bestrahlung erwartungsgemäß ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen in der Inzidenz der III° Mukositis mit einem p< 0,0001. In der Patientengruppe mit hyperfraktionierter Bestrahlung ist dieser Unterschied nicht mehr nachweisbar; hier kommt die Tatsache zum tragen, dass die maximale Mukositis eben ein ungenauer Parameter ist und insgesamt bei dieser zweiten Patientengruppe mehr Patienten zu irgendeinem Zeitpunkt diesen Endpunkt erreichen, sich aber durchaus im zeitlichen und räumlichen Verteilungsmuster unterscheiden.

Die Ausprägung der Mukositis ist auch abhängig vom bestrahlten Volumen. Alle Patienten mit Tumorlokalisationen, die Feldausdehnungen mit Einschluss größerer Anteile der Mundhöhle erforderlich machen (Oropharynx, Hypopharynx, Zungengrund, Mundboden, Mundhöhle, Kiefer) haben signifikant häufiger eine III° Mukositis als Patienten mit Tumoren, die schleimhautschonend bestrahlt werden können (Nasopharynx, Nasenhaupt- oder Nebenhöhen, Larynx) mit einem p von 0,019 für die niedrige Dosisgruppe und einem p von 0,039 für die hohe Dosisgruppe.

Das Alter hat keinen signifikanten Einfluss, ebenso Befindlichkeit und Beziehungssituation. Auch bei der Angabe zum Alkohol mit ja oder nein findet sich kein Unterschied in der Inzidenz der Grad III Mukositis, was etwas erstaunt, da dies allgemein als Risikofaktor angegeben wird.

Untersucht man den Einfluss des Rauchverhaltens in der Gruppe bis 66 Gy, so findet sich kein Unterschied zwischen never-smokers und solchen Patienten, die während der Bestrahlung rauchen (p= 0,6); hier ist das n mit 18 rauchenden Patienten allerdings eher klein. Betrachtet man den Unterschied zwischen never-smokers und solchen, die vor der Bestrahlung aufhörten zu rauchen (n=39), so findet sich der erwartet signifikante Unterschied (p=0,028). In der höheren Dosisgruppe sind es 19 bzw. 27 Patienten, hier finden sich keine signifikanten Unterschiede.

T und N Stadium des Tumors haben keinen Einfluss auf die Nebenwirkungsrate. Auch der Resektionsstatus bleibt innerhalb der Dosisgruppen ohne Einfluss. Der Zahnstatus (gute Restzähne vs. keine vs. schlechte) und das Vorhandensein von Metallfüllungen in den Restzähnen haben keinen signifikanten Einfluss auf die Rate der III° Mukositis; allerdings muss dabei bedacht werden, dass Patienten mit Metallfüllungen routinemäßig einen Wangenretraktor

bekommen und somit die fokale Dosiserhöhung vermieden wird. Untergewichtige Patienten haben nicht mehr III° Mukositis als Normalgewichtige. Auch der Allgemeinzustand bei Therapiebeginn (ECOG 0 vs. ECOG1)macht keinen Unterschied in der Inzidenz. Bei nur 13 bzw. 9 Patienten mit schlechter Mundpflege während der Bestrahlung lassen sich keine Unterschiede in der Inzidenz feststellen; hier spielt jedoch die intensive Betreuung eine große Rolle, die insgesamt bei den Patienten zu einer sehr guten Adhärenz zu den empfohlenen Pflegeprotokollen führt.

Untersucht wurde auch der Einfluss von Medikamenten, die von mehr als 10% der Patienten eingenommen werden, auf die Ausprägung der Mukositis. Hier zeigt sich für keine der Medikamentengruppen ein signifikanter Einfluss, wobei auch hier zum Teil nur kleine Häufigkeiten geprüft werden konnten (wie häufig welche Medikamente genommen wurden findet sich in der Basisstatistik Mundhöhlenbestrahlung). Zusammenfassend kann man sagen, dass nach unserem Erkenntnisstand die Ausprägung der Mukositis nicht wesentlich von der Komedikation beeinflusst wird.

Gleiches gilt auch für den Einfluss von Komorbiditäten. Untersucht wurden gezielt Schilddrüsen-Funktionsstörungen, Magen-Darm-Krankheiten, Knochen- und Gelenkserkrankungen sowie die häufig als Einflussfaktor genannten Diabetes (bei n=12) und Hypertonus (bei n=43). In unserem Kollektiv findet sich keine erhöhte Rate von Grad III Mukositis bei vorliegen einer dieser Erkrankungen. Aufgrund des großen untersuchten Kollektivs ist diese Aussage recht zuverlässig, und man kann die häufig postulierte, aber in Studien nie gezeigte Rolle dieser Erkankungen als Kofaktor ernsthaft anzweifeln. Auch bei Überprüfung, ob ein Einfluss von eingeschränkter Nieren- oder Leberfunktion sowie eines reduzierten Hämoglobinwertes besteht, fand sich keine signifikante Korrelation. Entgegen der klinischen Wahrnehmung findet sich kein Unterschied in den Dosisgruppen abhängig von Chemotherapie ja oder nein, wobei dies für die höhere Dosisgruppe damit erklärt werden kann, dass die Patienten im Wendt-Schema mit Chemotherapie nach jeweils 2 Therapiewochen eine Pause von 10 Tagen haben (split-course), die bei den Patienten im concomitant-boost Protokoll nicht eingelegt wird. Daraus resultiert, bei gleicher Enddosis, auch die Tatsache, dass die beiden Konzepte sich in der Inzidenz der Grad III Mukositis als maximale Toxizität nicht unterscheiden.

In der niedrigen Dosisgruppe bis 66 Gy haben die Patienten mit Chemotherapie in 9% eine III° Mukositis, und ohne Chemotherapie 40%, der knapp nicht signifikante Unterschied (two sided p=0,0513) ist somit anders gerichtet als erwartet. Der boost von 6 Gy wirkt sich nicht auf die Inzidenz der Grad III Mukositis aus.

1.1.3.3. Zusammenfassung: Einflussfaktoren für die Akutreaktion

Bei den Patientinnen mit Brustbestrahlung sind Dosis und BMI die wesentlichen Einflussfaktoren auf die Ausprägung der Hautreaktion. Bei Bestrahlung der Mundhöhle sind die Dosis und die Tumorlokalisation Einflussfaktoren auf die Ausprägung der Mukositis. Diese Faktoren wurden entsprechend beim matching berücksichtigt.

1.2. Ergebnisse der Patienten mit MN-direkt Messung

1.2.1. Basisstatistik

Da es sich hier um ein Subkollektiv der Gesamtgruppe handelt, deren Auswahl eher zufällig durch organisatorische Aspekte bestimmt wurde, werden die Basisdaten für dieses Kollektiv hier noch einmal getrennt beschrieben. Insgesamt finden sich allenfalls geringe Unterschiede zum Gesamtkollektiv, zur Klarstellung soll jedoch das Kollektiv hier einmal definiert und beschrieben werden (1.2.1.1), bevor die Analyse erfolgt.

1.2.1.1. Basisstatistik des Kollektivs mit MN-direkt Messung

In der Gesamtgruppe von 282 Patienten lag das mediane Alter bei 58,5 Jahren (range 31 bis 88 Jahre). Der Anteil der Patienten über 60 lag bei 45%, der Anteil der Patienten über 70 Jahre bei 14%. 71 Patienten (25,2%) waren männlich, 87 Patienten (30,1%) wurden im Kopf-Hals-Bereich bestrahlt. Insgesamt handelte es sich in 5,7% um eine Behandlung im Rezidiv, wobei 9 Patienten (3,2%) an anderer Stelle vorbestrahlt waren, weitere 3 Pat. (1,1%) in der gleichen Region. Der Allgemeinzustand der Patienten wurde mittels Karnofsky-Index (KI) erfasst. Viele Patienten hatten einen guten Allgemeinzustand (KI 100 und 90 in 94%), einen reduzierten Allgemeinzustand hatten 17 Patienten (6% mit KI 80 oder 70). Untergewicht wurde bei 9 (3,2%) Patienten errechnet, ausgeprägtes Übergewicht bei 39 (13,8%).

Insgesamt gaben 55 Patienten (19,5%) an, während der Bestrahlung weiterhin zu rauchen, weitere 44 (15,6%) gaben an, vor der Bestrahlung im Rahmen der Tumordiagnose damit aufgehört zu haben. Die übrigen 183 (64,9%) hatten nie geraucht oder schon vor Jahren damit aufgehört. Einen Alkoholkonsum gaben 118 Patienten (41,8%) an; bei offensichtlichen Falschangaben wurde vom Arzt der Alkoholkonsum festgehalten. Dabei wurde bei 19,5% dieser Subgruppe ein häufiger und bei 80,5% ein seltener Alkoholkonsum angegeben. Die konsumierten Alkoholika wurden von 110 Patienten erfasst (alleinig Patientenangaben), überwiegend wurde Wein oder Sekt angegeben (53,2%), etwas seltener Bier (45%) oder Schnaps (n=2, 1,8%).

Eine normale Befindlichkeit wurde bei 163 (57,8%) Patienten festgehalten, eine Einschränkung der Befindlichkeit (s. 1.1.1, Kategorie 2, 89 Patienten, oder 3, 29 Patienten) wurde bei 118 Patienten (41,8%) dokumentiert. 1 Patient wurde als instabil (Kategorie 4) eingestuft. Eine normale Beziehungssituation wurde bei 209 (74,1%) Patienten dokumentiert, eine erschwerte Beziehungssituation (Kategorie 2, 51 Patienten, oder 3, 20 Patienten) bei 71 Patienten (25,2%). Extrem problematisch war die private Situation von 2 Patienten (0,7%).

Eine Antibiose in den 14 Tagen vor Therapiebeginn hatten 3,9% der Patienten erhalten. 55,7% der Patienten erhielten keine Chemotherapie, bei 98 (34,8%) Patienten wurde sie sequentiell durchgeführt, bei 8 Patienten sequentiell und simultan und bei 19 (6,7%) Patienten simultan. Die Details zur Chemotherapie finden sich in den tumorspezifischen Abschnitten.

Ein Hypertonus lag bei 23% der Patienten vor, eine KHK bei 3,5%, Rhythmusstörungen bei 7,5% und andere Herzerkrankungen bei 4%. Eine COPD hatten 4%, andere Lungenerkrankungen 2,8%, Erkrankungen des Nervensystems 8,5%, Knochen/Gelenkserkrankungen 13% und einen Diabetes 6,4%. Erkrankungen im Magen-Darm Bereich kamen in 8,7% vor. 9 (3,2%) hatten eine pAVK, eine Schilddrüsenerkrankung 13,5%. Selten waren Erkrankungen des Auges (2,5%), des Blutes (2,5%), der Haut (2,8%), des Urogenitalsystems (2%) oder des Immunsystems (1%) vor. Diabetes hatten 5% der Patienten, andere Stoffwechselerkrankungen kamen bei 3,9% der Patienten vor. 8,5% der Patienten hatten bereits früher einen bösartigen Tumor.

Bei der Medikamenteneinnahme wurden folgende Kategorien beurteilt: Herzmedikamente (26,9%), Diuretika (7,1%), Mukolytika (4,3%), Bronchospasmolytika (3,9%), NSAID (13,1%), nicht-opioide Schmerzmittel (5,3%), Opioide (1,1%), Steroide (1,4%), Magenmedikamente (13,1%), Antidiabetika (4,2%), SD-Hormone (13,1%), Vitamine/Elektrolyte (17,7%), Pflanzliche Mittel (9,9%), Antidepressiva (2,8%), andere neurologische Medikamente (7,5%), homöopathische Mittel (5,7%), Stoffwechselmedikamente (11,3%), Gerinnungshemmer (6%), Enzyme (1,4%) und andere Medikamente (4,6%).

Weiterhin gibt es einige klinische Eigenschaften, die sich sinnvoll nur getrennt nach Tumorentität darstellen lassen.

1.2.1.2. Ergänzende Angaben zu den Patienten mit Brustbestrahlung

In dieser Subgruppe befinden sich 195 Patienten. Der BMI zeigte in 3 (1,5%) ein Untergewicht an, ein extremes Übergewicht lag bei 34 (17,4%) der Patientinnen vor. Eine Vorbestrahlung war bei 11 Patientinnen (5,6%) dieser Gruppe durchgeführt worden, dabei war es in 3 Fällen die gleiche Region gewesen. Eine Chemotherapie war bei 114 (58,5%) Patientinnen erfolgt, sequentiell bei 98 Patientinnen, simultan bei 8 und sowohl simultan als auch sequentiell bei 8. Die verwendeten Substanzen waren bei 77 (39,5% von der Gesamtgruppe) Fällen EC, in 41 (21%) Fällen CMF. 17 (8,7%) Patientinnen war mit einer Taxolhaltigen Kombination behandelt worden, 2 mit ETC, 4 mit AC und 1 mit Epirubicin mono vorbehandelt, wobei auch hier Mehrfachnennungen möglich waren. Eine Antihormontherapie erhielten 106 (54,4%) der Patientinnen, überwiegend (96, 49,2% der Gesamtgruppe) mit Tamoxifen.

Bei 100 (51,3%) Frauen wurde die rechte Brust behandelt, bei 95 (48,7%) die linke Brust. Bei 140 (71,8%) erfolgte die Bestrahlung nach brusterhaltender Operation, 54 (27,7%) hatten eine Ablatio erhalten. Eine ipsilaterale Lymphknotendissektion war in 190 Fällen durchgeführt worden (97,4%), in 5 Fällen nicht. Die Mehrzahl der Patientinnen war R0-reseziert (184, 94,4%), ein kleiner Anteil inkomplett (R1: 9 Pat.=4,6%). Nur eine PE war bei 2 Patientinnen erfolgt (1%). Eine Serumpunktion postoperativ war bei 14 (7,2%) der Patientinnen nötig. Bezüglich des T-Stadiums waren 6 (3,1%) Patientinnen im Stadium cis, 104 (53,3%) Patientinnen im Stadium I, 64 (32,8%) im Stadium II, jeweils 9 (4,6%) im Stadium III und IV, ein unbekanntes Stadium bezüglich des Primärtumors mit Tx kam bei 3 (1,5%) Patientinnen vor. Nodal negativ waren 107 (54,8%) Patientinnen, nodal positiv 88 (45,2%). 8 (4,1%) der Patientinnen hatten Fernmetastasen. Histologisch handelte es sich in 126 (64,6%) der Fälle um ein invasiv-ductales Karzinom, in 31 (15,9%) um ein invasiv-lobuläres Karzinom, ein tubuläres Karzinom in 10 (5,3%) Fällen, ein szirrhöses Karzinom in 4 (2,1%) Fällen; 21 Patientinnen (10,8%) wiesen eine Mischhistologie auf. Der Differenzierungsgrad war mit I und II angegeben in 146 (75%) Fällen, mit III bei 49 (25%) Fällen.

Die Strahlentherapie erfolgte in 187 (96%) Fällen adjuvant und in 8 (4%) Fällen palliativ. Die Einzeldosis betrug bei allen Patientinnen 2 Gy pro Tag. Die Gesamtdosis betrug bei 140 Patientinnen 50 Gy (71,8%). 55 Patientinnen wurden höher dosiert bestrahlt, mit 60-66 Gy Gesamtdosis. Diese höhere Dosis resultiert aus einem Teletherapie-Boost bei 56 (28,7% des Gesamtkollektivs) Patientinnen, der entweder mit Kobalt (4 Pat.), Elektronen (3 Pat.), 15 MV Photonen (5 Pat.) oder mittels 6 MV Photonen (44 Pat.) durchgeführt wurde. Bei 16 Patientinnen war bereits intraoperativ ein boost von 15 Gy mit Elektronen appliziert worden; dieser wird im weiteren für das Zielorgan Haut nicht berücksichtigt, allerdings wird diese Patientinnengruppe bezüglich der Inzidenz der später Nebenwirkungen getrennt betrachtet. Die Bestrahlung der Brust erfolgte überwiegend mit 6 MV Photonen (116, 59,5%) oder einer Mischung aus 15 MV und 6 MV Photonen (66, 33,9%). Nur 15 MV Photonen wurden bei 7 Patientinnen (3,6%) eingesetzt, eine Mischung mit Kobalt erfolgte in 1 Fall (0,5%) und alleinig Kobalt wurde für die Bestrahlung von 5 Patientinnen (2,5%) eingesetzt. Eine Bestrahlung des Lymphabflusses erfolgte in 76 (39%) Fällen mittels Kobalt, in weiteren 16 (8,2%) Fällen mittels 6 MV Photonen.

1.2.1.3. Ergänzende Angaben zu den Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung

In dieser Gruppe befinden sich 87 Patienten. Der BMI zeigte in 6 (6,9%) der Patienten ein Untergewicht an, ein ausgeprägte Adipositas nur in 5 (5,7%) Fällen.

Bei der Dokumentation der Tumorlokalisation wurde ein Mehretagentumor immer an jeder befallenen Region erfasst. 49 (56%) der Patienten hatten einen Mundhöhlentumor, 29 (33%) einen Befall des Oropharynx, 19 (22%) einen Befall des Hypopharynx. Kehlkopftumoren kamen bei 29 (16,7%) der Patienten vor, Nasopharynxtumoren in 8 (9%) Fällen und Nasenhöhlentumoren in 5 (5,7%) Fällen vor. Selten wurden auch Patienten mit

Speicheldrüsentumor eingeschlossen (2 Patienten, 2,3%). Ein Tracheostoma mit oder ohne Laryngektomie hatten 20 (23%) der Patienten. Bei 27 (31%) lag Inoperablität vor, sie hatten nur eine PE erhalten. Eine R2-Resektion war bei 4 (4,6%) Patienten erfolgt, eine R1-Resektion bei 23 (26,4%) Patienten. Eine vollständige Resektion war bei 33 (38%) der Fälle durchgeführt worden. Im Rahmen der kurativen Operation erfolgte auch die Sanierung der Hals-Lymphknoten; in 56 (64,4%) der Patienten erfolgte eine ipsilaterale Neck dissection, bei 25 (28,7%) Patienten eine Neck dissection oder eine Halsgefäßscheidenrevision kontralateral. Eine plastische Deckung von Weichteildefekten erfolgte bei 13 (15%) Patienten.

Bezüglich des T-Stadiums waren 8 (9,2%) Patienten im Stadium I, 28 (32,2%) im Stadium II, 25 (28,7%) im Stadium III und 26 (29,9%) Patienten im Stadium IV. Nodal negativ waren 29 (33,3%) Patienten, nodal positiv 58 (66,7%). 4 (4,6%) der Patienten hatten Fernmetastasen. Histologisch handelte es sich in 82 (94,3%) der Fälle um ein Plattenepithel-Karzinom, in 4 (4,6%) um ein Adenokarzinom, 1 Patient (1,1%) wies eine Mischhistologie auf. Der Differenzierungsgrad war mit I und II angegeben in 63 (72,4%) Fällen, mit III und IV bei 24 (27,6%) Fällen. Die Bestrahlung erfolgte abhängig von der Tumorsituation innerhalb verschiedener definierter Schemata (s. 1.1.1.3). Wir applizierten 60 Gy bei 36 (41,4%) Patienten, 66 bis 70 Gy bei 24 Patienten (27,6%). Eine Therapie nach dem Wendt-Schema erfolgte bei 8 Patienten (9,2%). Das concomitant-boost Schema wurde bei 19 (21,8%) der Patienten eingesetzt. Eine Bestrahlung des kaudalen Lymphabflusses erfolgte bei 86 Patienten (98,9%).

Eine simultane Chemotherapie wurde bei 11 (12,6%) der 87 Patienten mit Bestrahlung im Kopf-Hals-Bereich durchgeführt, 13 Patienten erhielten Cisplatin, 8 erhielten zusätzlich 5-FU (im Wendt-Schema beide Substanzen). Ebenfalls dokumentiert wurde die Bestrahlungstechnik. 42 (48,3%) der Patienten wurden alleinig mit Kobalt bestrahlt, die Retrofelder wurden mit Elektronen aufgesättigt. 11 (12,6%) der Patienten wurden dagegen alleinig mit 6 MV Photonen bestrahlt und bei 34 (39,1%) wurden gemischte Energien eingesetzt. Der Lymphabfluss wurde bei der überwiegenden Zahl der Patienten (84, 96,5%) mit Kobalt bestrahlt, nur 2 Patienten (2,3%) wurden kaudal mit 6 MV Photonen bestrahlt, in 1 Fall (1,1%) wurde der Lymphabfluss gar nicht bestrahlt. Ein Mundkeil wurde in 25 Fällen (28,7%) eingesetzt, um den harten Gaumen zu schonen.

1.2.2. Ausprägung der Nebenwirkungen

Bei der Akutreaktion wird jeweils der schwerste aufgetretene Befund am Zielorgan im Verlauf der Behandlungsserie bis zum letzten Tag der Therapie berichtet (MaxTox). Diese Definition ordnet also einem Patienten, der z.B. an der Schleimhaut vier Wochen lang keine Reaktion zeigte, dann eine Woche lang Grad I Reaktion und nur bei Entlassung einmal eine Grad II Reaktion, eine maximale Toxizität der Schleimhaut Grad II zu, genauso wie dem Patienten, der über vier Wochen lang eine Grad II Reaktion erlitt. Für die Spätreaktionen wird jeweils die Rate der Inzidenz nach Schweregraden gruppiert berichtet. Dabei unterscheidet sich dieses Kollektiv bezüglich der allgemeinen Nebenwirkungen nicht vom Gesamtkollektiv, sodass diese nicht erneut berichtet werden, sondern hier nur auf die Zielorgane Haut und Schleimhaut eingegangen wird.

1.2.2.1. Nebenwirkungen der Brustbestrahlung

1.2.2.1.1. Akut

Die Nebenwirkungen an der Haut bei diesen Patientinnen waren bei 2% Grad 0, bei 58% Grad I, bei 34% Grad II und bei 6% Grad III. Dabei wurden die Angaben aller Lokalisationen zusammengefasst (Brust, supraclavikulär, submammär, axillär). Betrachtet man ausschließlich die Fläche der Brust, so waren es 11/65/23/1%.

1.2.2.1.2. Spät

157 Patientinnen konnten bezüglich ihrer Spätnebenwirkungen nach Brustbestrahlung evaluiert werden. Teleangiektasien traten in 44% nicht auf, bei 49,4% in ganz leichter Form als Grad I Reaktion und in nur 6,6% als Grad II Reaktion auf. Keine Fibrose wurde bei 55,4% der Patientinnen gesehen, eine Fibrose Grad I hatten 33,2% und 3,2% eine Fibrose Grad II. Bei weiteren 8,2% fehlte die Angabe zur Fibrose. Ein Lymphödem im Arm wurde als Grad I gesehen bei 12,7%der Patientinnen und als Grad II bei 3,8%. Weitere 55,4% hatten kein Lymphödem, bei 28,1% wurde es nicht ausreichend dokumentiert.

1.2.2.2. Nebenwirkungen der Mundhöhlenbestrahlung

1.2.2.2.1. Akut

Zielorgan der Empfindlichkeitsbeurteilung war die Schleimhaut. Hier finden sich Nebenwirkungen wie folgt: Grad 0 2%, Grad I 18%, Grad II 43% und Grad III 37%. An der Speicheldrüse war die Rate der Grad III Nebenwirkungen in der Akutreaktion 10%, am Pharynx betrug die Rate der III Reaktionen 28% und an der Haut kam eine III Reaktion in 35% vor.

1.2.2.2.2. Spät

73 Patienten wurden bezüglich ihrer Spätnebenwirkungen beurteilt. An der Haut fanden sich späte Strahlenfolgen Grad 0 in 9,6%, Grad I in 68,5% und Grad II in 19,2%. Bei 2,7% fehlte die Beurteilung, eine Grad III Reaktion kam nicht vor. An der Mundschleimhaut zeigten sich Nebenwirkungen Grad 0 in 21,9%, Grad I in 57,5%, Grad II in 13,7% und Grad III in 2,7%. Bei 4,2% der Patienten fehlte die Angabe zur Mundschleimhaut. An der Speicheldrüse fand sich keine späte Nebenwirkung in 11%, eine Grad I Nebenwirkung in 35,6%, eine Grad II Nebenwirkung in 42,4% und eine Grad III Reaktion in 11%. Am Ösophagus, vor allem charakterisiert durch die Schluckstörung und nicht unbeeinflusst vom Ausmaß der Xerostomie zeigen sich keine Folgen in 35,6%, eine Grad I Reaktion in 42,4%, eine Grad II Reaktion in 15,1 % und eine Grad III Reaktion bei 1,4% der Patienten. Hier gab es in 5,5% der Fälle fehlende Angaben.

1.2.2.3. Zusammenfassung der Nebenwirkungsinzidenz

Grad III Nebenwirkungen bei Brustbestrahlung traten an der Haut in der Phase akuter Reaktionen bei 6% auf, in der Phase später Nebenwirkungen bei keiner Patientin. Bei Mundhöhlenbestrahlung kam es akut zu 37% Grad III Mukositis, spät zu 3%. An der Haut waren es in dieser Patientengruppe 35% akut und keinmal spät. Eine nennenswerte Rate an III° Spätreaktionen zeigten außerdem Speichedrüse (11%) und Ösophagus/Rachen (1,4%).

1.2.3. Beeinflussung der Mikronukleus-Werte durch klinische Faktoren

Es wurde kontrolliert, inwieweit klinische Faktoren einen Einfluss auf die Ausprägung des MN-direkt Wertes haben. Durch vorangehende Untersuchungen an gesunden Probanden hatte sich gezeigt, dass hohe Werte oft mit einer Krankheit oder vermehrten Belastung einhergingen und die gleichen Probanden zu einem späteren Zeitpunkt wieder niedrige Werte hatten.

Untersucht wurden Alter (> und < 60 Jahre), Geschlecht, Karnofsky-Index (90/100 vs. <90), BMI (body mass index, gruppiert nach Untergewicht, Normal/leichtes Übergewicht, mehr als leichtes Übergewicht), Diabetes, COPD, Autoimmunkrankheiten, Resektionsstatus, Blutkrankheiten, die Einnahme von NSAID, Vitaminen/Elektrolyten, Steroiden, Gerinnungshemmern oder Wachstumsfaktoren während einer vorhergehenden Chemotherapie, Antibiose 14 Tage vor Beginn der Radiotherapie, Transfusionen im vorangegangenen halben Jahr, Anämie (<11 vs.

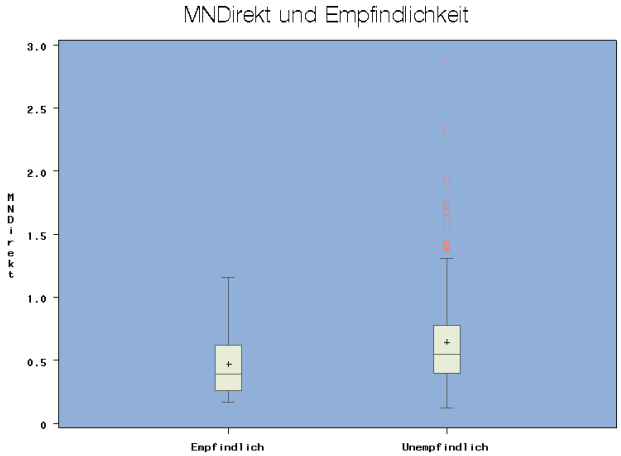
größer), Leber- und Nierenwerte (erhöht oder normal) und Chemotherapie (sowohl als ja/nein Variable als auch nein/simultan/sequentiell/beides). Außerdem wurden die klinisch empfindlich eingestuften Patienten (s. 2.3, in dieser Subgruppe hier allerdings nur 15 wg. fehlender Blutabnahme vor Bestrahlungsbeginn) im Vergleich zu denen mit als normal angesehenem Nebenwirkungsmuster betrachtet. Im folgenden genannt sind die signifikanten Unterschiede.

Es sei noch einmal darauf hingewiesen, dass die Analyse explorativ ist. Die angegebenen Signifikanzen beziehen sich auf den jeweiligen Einzelvergleich. Eine Adjustierung der Irrtumswahrscheinlichkeit wurde nicht vorgenommen. Bei einer Analyse von 20 Parametern je drei mal (Gesamtgruppe/Brust/Mundhöhle) und einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ist somit bei 60 Tests mit mindestens drei falsch positiven Tests zu rechnen. Die Prüfung auf Signifikanz der Unterschiede erfolgte mittels Mann-Whitney-U-Test bzw. mittels Kruskal-Wallis Test.

1.2.3.1 Gesamtgruppe der Patienten mit MN direkt

In der Gesamtgruppe der Patienten zeigte sich bei 4 Patienten mit Einnahme von Steroiden ein signifikant höherer Wert für die MN-direkt als bei 278 Patienten ohne (p=0,028). Bei 15 klinisch empfindlichen Patienten zeigte sich ein signifikant niedrigerer Wert für die MN direkt als bei 267 klinisch normal reagierenden Patienten (p=0,032). Betrachtet man den Parameter MN direkt vor Beginn der Bestrahlung im Kollektiv der 60 Patienten von 2.3 (empfindlich und gematcht), verliert sich diese Signifikanz. Auch zwischen den beiden Gruppen Brust/Mundhöhle fand sich kein signifikanter Unterschied.

Abb. 6: Mikronuklei im Frischblut (MN direkt) bei 15 empfindlichen und 267 nicht empfindlichen Patienten im screening. Blutabnahme vor Beginn der Teilkörperbestrahlung



1.2.3.2 Patientinnen mit Brustbestrahlung

Hier ist der Effekt der Steroide wiederzufinden (p=0,028 bei 4 Pat. mit Einnahme, 148 ohne). Bei zwei (!) Patientinnen mit Nierenfunktionsstörung, d.h. erhöhten Nierenwerten, lag der MN-direkt Wert deutlich niedriger als bei den 150 mit normalen Nierenwerten (p=0,037 bei kleinem n). Die Signifikanz für Empfindliche vs. Unempfindliche findet sich in der Subgruppe nicht mehr, die in der Gesamtgruppe zu sehen war. Ein Einfluss der geplanten Gesamtdosis findet sich nicht.

1.2.3.3 Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung

In diesem Kollektiv zeigt sich ein signifikanter Einfluss des Resektionsstatus auf die Variable MN direkt, wobei Patienten mit einzig einer Probeentnahme höhere Werte zeigen als die Patienten mit verschiedenem Resektionsstatus (Mittelwert ohne Operation 54,7, mit R2-Resektion 49, mit R1-Resektion 46, mit R0-Resektion 33). Allerdings findet sich bei Kontrolle bezüglich der geplanten Dosis (die ja von der Operation direkt beeinflusst wird und bei allen

Patienten mit PE allein höher ist als bei Patienten mit R0 oder R1-Resektion) kein signifikanter Unterschied bezüglich des MN-direkt-Wertes. In der Subgruppe mit Mundhöhlenbestrahlung findet sich die Signifikanz für Empfindliche vs. Unempfindliche nicht mehr, die in der Gesamtgruppe zu sehen war.

1.2.3.4 Zusammenfassung

Der signifikante Einfluss von Steroid-Medikation auf die Ausprägung des MN-direkt Wertes ist sehr zu hinterfragen, da er auf eine sehr geringe Zahl von Patienten mit diesem Medikament zurückgeht. Noch extremer ist die geringe Zahl in Frage kommender Patienten bei der Berechnung eines möglichen Einflusses der Nierenfunktionsstörung auf den MN-direkt-Wert, hier geht der Effekt in der etwas größeren Gruppe (6 zu 64 Patienten) bei Bestrahlung der Mundhöhle wieder verloren. Eine abschließende Beurteilung bezüglich der Korrelation des MN-direkt-Wertes vor Beginn der Bestrahlung mit der klinischen Empfindlichkeit ist nicht möglich; da es sich um einen Einzelbefund im Gesamtkonzept der Beurteilung handelt; weder bei Analyse der Subgruppen noch bei Analyse der gematchten Paare im Kollektiv empfindlich-gematcht findet sich eine Korrelation, sodass ein Zusammenhang eher unwahrscheinlich ist. Auch der Einfluss des Resektionsstatus bei Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung ist am ehesten ein Artefakt.

1.2.4. Korrelation von Mikronukleus-Werten und Nebenwirkungen

Der Zusammenhang zwischen akuten Nebenwirkungen und dem MN-direkt Wert wurde geprüft, indem man zunächst die Patienten nach ihrem MN-direkt Wert in Gruppen eingeteilt hatte (Methode vgl. Dikomey, 2003). Dabei wurden die Patienten mit Werten über der 85%-Perzentile als empfindlich bezeichnet, die Patienten mit Werten zwischen der 85% und der 15%-Perzentile als Normal und die mit Werten unter der 15% -Perzentile als resistent. Die Werte werden mittels Chi-Quadrat Test verglichen.

Zur Kontrolle eines Zusammenhangs der Spätreaktionen mit dem MN-Wert wurden die Patienten wie oben beschrieben in Gruppen (Empf. vs. Normal + Resistent) aufgeteilt. Die Inzidenz der Nebenwirkungen wurde im Verlauf der Nachbeobachtung pro Organ und Schweregrad aufgetragen, wobei die empfindlichen Patienten (obere 15% der Werte) mit den andern Patienten (untere 85%) verglichen werden. Patienten, die ohne Ereignis aus der Beobachtung ausscheiden wurden zensiert. Die geringe Inzidenz bei insgesamt kurzer Nachbeobachtungszeit führt zu Kurven, die zum Teil noch sehr starke Stufen aufweisen. Dennoch werden sie hier demonstriert; vorgesehen ist die Kontrolle dieser Kurven im Langzeitverlauf. Daher wird hier auf die Berechnung eines Signifikanzlevels verzichtet.

1.2.4.1. Akute Nebenwirkungen der Brustbestrahlung

Nach Einteilung der Patienten in strahlenbiologisch empfindlich und normal bzw. resistent zeigte sich im Vergleich eine Inzidenz der Hautreaktion Grad 0 von 0/2,5%, Grad I 62% (E)/58%(nonE), Grad II von 28%/35% und Grad III von 11%/5%. Dieser Unterschied ist nicht signifikant. Gleiches gilt auch, wenn nur die Haut an der Fläche der Brust betrachtet wird. Auch wenn die Patientinnen nach der Dosis eingeteilt werden in zwei Gruppen (bis 52 Gy oder darüber) findet sich keine Signifikanz (p=0,4 in beiden Dosisgruppen).

1.2.4.2. Späte Nebenwirkungen der Brustbestrahlung

Hier ist zur Zeit die Inzidenz der Grad I Reaktion bezüglich Teleangiektasien und Fibrose in der Gruppe der Patientinnen, die biologisch als nicht-empfindlich eingestuft wurden höher als in der Gruppe der Empfindlichen. Viele der Kurven zeigen sehr parallele Verläufe bezüglich der

Inzidenz (andere Schweregrade). Ein Lymphödem des Armes kam insgesamt so selten vor, dass eine Betrachtung der Verteilung sinnlos wäre.

Abb. 7: Inzidenzkurven für Fibrose I° (Abb. 7a) und Teleangiektasien I° (Abb. 7b) RTOG im Kollektiv der 152 Patientinnen mit Brustbestrahlung

Abb. 7a

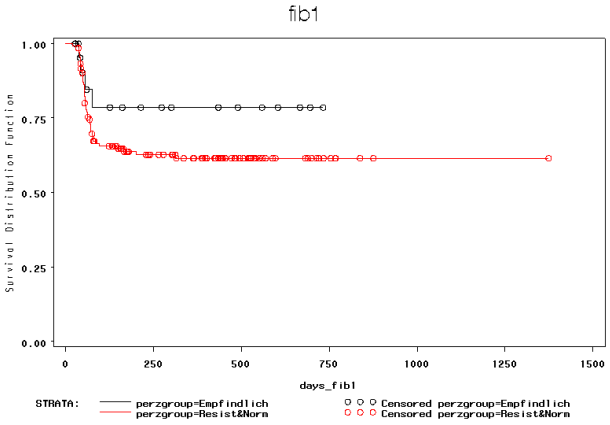
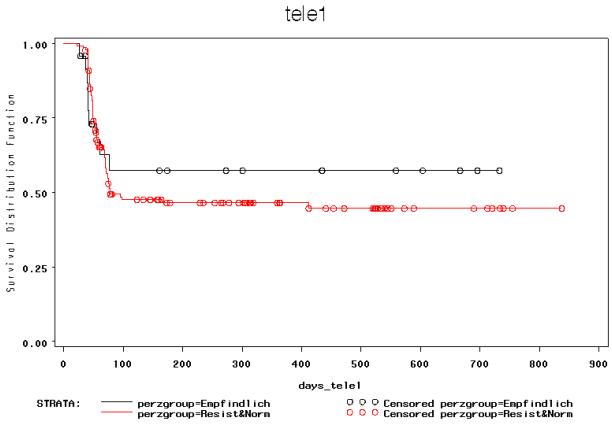


Abb. 7b



1.2.4.3. Akute Nebenwirkungen der Mundhöhlenbestrahlung

Nach Einteilung der Patienten in strahlenbiologisch empfindlich und normal bzw. resistent wurde die Inzidenz der Nebenwirkungen erneut geprüft. Es zeigte sich im Vergleich empfindlich/andere eine Inzidenz der Schleimhautreaktion Grad 0 von 0/2%, Grad I 25/16%, Grad II von 37/44% und Grad III von 38/38%. Dieser Unterschied ist nicht signifikant (Chi-Quadrat-Test). Gleiches gilt auch bei Betrachtung von Speicheldrüsenreaktion, Schluckbeschwerden und Hautreaktion. Auch wenn die Patienten nach der Dosis eingeteilt werden in zwei Gruppen (bis 66 Gy oder darüber) und die Berechnung erneut durchgeführt wird findet sich keine Signifikanz.

1.2.4.4. Späte Nebenwirkungen der Mundhöhlenbestrahlung

An der Haut findet sich weder für Grad I noch für Grad II ein Unterschied im Kurvenverlauf. An der Mundschleimhaut ist die Inzidenz der Grad III Reaktion in der Gruppe der biologisch empfindlichen Patienten etwas höher, jedoch ist aufgrund der insgesamt geringen Zahlen auch hier noch keine Signifikanztestung möglich.

Abb. 8: Inzidenzkurven für Hautreaktion II° (Abb. 8a) und Schleimhautreaktion III° (Abb. (b) in der Gruppe der 87 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren

Abb. 8a

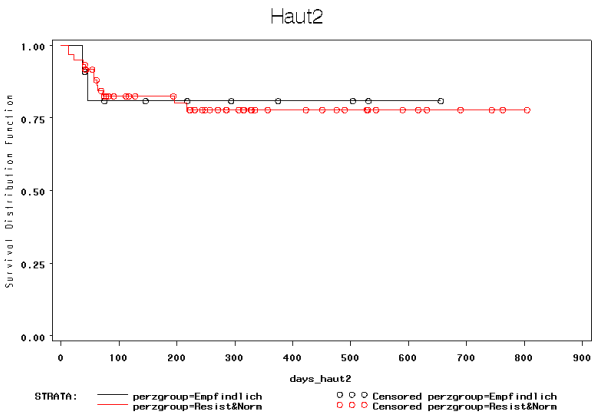
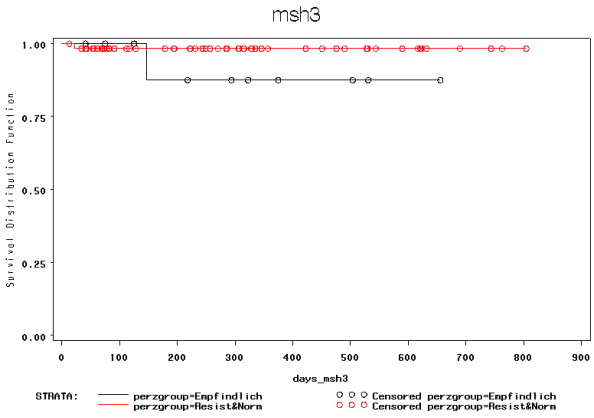


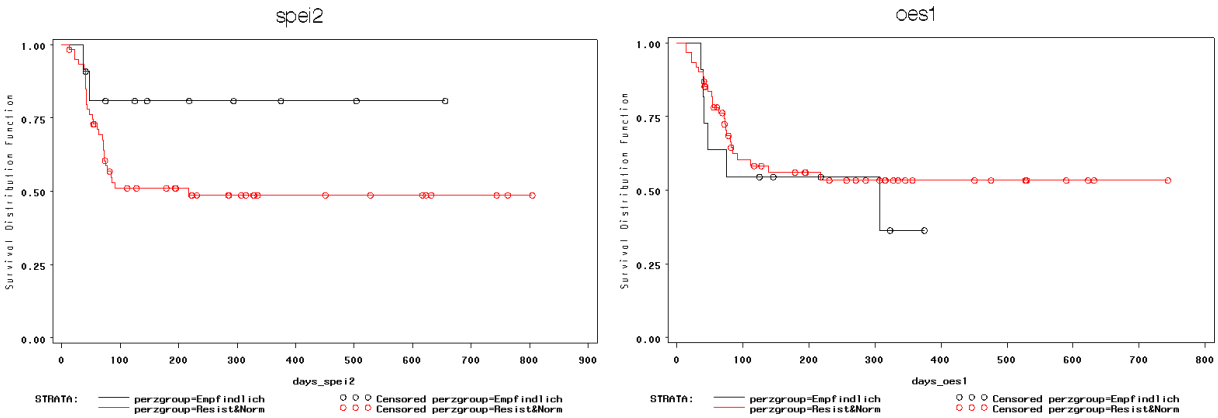
Abb. 8b



An der Speicheldrüse ist die Inzidenz von Grad II Nebenwirkungen erneut in der nicht-empfindlichen Gruppe höher als in der empfindlichen Gruppe. An der Speiseröhre findet sich kein Unterschied.

Abb. 9: Inzidenzkurven der Xerostomie II° RTOG (9a) und der Ösophagitis I° RTOG (9b) in der Gruppe der 87 Patienten mit Kopf-Hals-Bestrahlung

Abb. 9a Abb. 9b



1.2.4.5. Zusammenfassende Beurteilung

Bisher bildet sich kein Zusammenhang zwischen Mikronukleus-direkt Wert und Inzidenz der frühen oder späten Strahlenreaktion in den Daten ab. Der prädiktive Wert dieses Parameters scheint daher zweifelhaft.

1.3. Ergebnisse der 60 Patienten (empfindlich und gematcht)

1.3.1. Basisstatistik

1.3.1.1. Basisstatistik Gesamtkollektiv

In der Gesamtgruppe von 60 Patienten lag das mediane Alter bei 58,8 Jahren (range 37 bis 78 Jahre). Der Anteil der Patienten über 60 lag bei 43%, der Anteil der Patienten über 70 Jahre bei 8%. 25 Patienten (42,6%) waren männlich, 38 Patienten (63%) wurden im Kopf-Hals-Bereich bestrahlt. Das die Patienten mit Bestrahlung unter Einschluss der Mundhöhle in diesem Subkollektiv überrepräsentiert sind liegt daran, dass eine auffällige Akutreaktion häufiger die Schleimhaut betrifft als die Haut. Insgesamt handelte es sich in 5% um eine Behandlung im Rezidiv, wobei kein Patient an dieser oder anderer Stelle vorbestrahlt war, da dies als Ausschlusskriterium definiert war.

Viele Patienten hatten einen sehr guten Allgemeinzustand (KI 100 in 66,7%) bzw. guten Allgemeinzustand (KI 90 in 25%). KI 80 wurde bei 6,7% der Patienten festgestellt, 1,6% hatten KI 70. Die Einhaltung der Pflegeanweisungen wurde bei 97% als gut festgehalten. Schlechte Zähne wurden insgesamt bei 4 Patienten (6,7%) gesehen, 15% hatten keine Zähne, die anderen Patienten gute Zähne, Metallimplantate fanden sich bei 12% der Patienten,. Diese letzteren Angaben sind in der Gruppe der Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung für das Risiko der Mukositis relevant und werden dort detailliert beschrieben.

Insgesamt gaben 9 Patienten (15%) an, während der Bestrahlung weiterhin zu rauchen, mehr als ein Päckchen war es dabei in 3 Fällen. Weitere 13 (22%) gaben an, vor der Bestrahlung im Rahmen der Tumordiagnose damit aufgehört zu haben, mehr als ein Päckchen hatten hier 7 Patienten geraucht. Die übrigen 38 (63%) hatten nie geraucht oder schon vor Jahren damit aufgehört. Einen Alkoholkonsum gaben 17 Patienten (28%) an; bei offensichtlichen Falschangaben wurde vom Arzt der Alkoholkonsum festgehalten. Dabei wurde bei 23,5% dieser Subgruppe ein häufiger und bei den übrigen ein seltener Alkoholkonsum angegeben. Die konsumierten Alkoholika wurden als Wein oder Sekt von 9 Patienten angegeben, als Bier in 8 Fällen, scharfe Alkoholika wurde nicht konsumiert.

Eine Einschränkung der Befindlichkeit (Kategorie 2 oder 3, s. 1.1.1) wurde bei 20 Patienten (33,3%) festgehalten, eine erschwerte Beziehungssituation (Kategorie 2 oder 3) bei 18 Patienten (30%). Eine Antibiose in den 14 Tagen vor Therapiebeginn hatten 17% der Patienten erhalten. 65% der Patienten erhielten keine Chemotherapie, bei 8 Patienten wurde sie sequentiell durchgeführt, bei 2 Patienten sequentiell und simultan und bei 11 Patienten simultan. Eine Antihormontherapie erhielten 14 Patientinnen mit Mamma-Ca, insgesamt 23,3%.

Ein Hypertonus lag bei 25% der Patienten vor, eine KHK bei 5%, Rhythmusstörungen bei 6,7% und andere Herzerkrankungen bei 3,3%. Eine COPD hatten 6,7%, andere Lungenerkrankungen ebenfalls 6,7%, Erkrankungen des Nervensystems 10%, Knochen/Gelenkserkrankungen 23% und Erkrankungen im Magen-Darm Bereich 11,7%. Je einmal kamen pAVK, Erkrankungen des Auges, des Blutes oder des Immunsystems vor. Diabetes hatten 5% der Patienten, eine Schilddrüsenerkrankung 18,3%, andere Stoffwechselerkrankungen kamen bei 6,7% der Patienten vor. Ebenso viele Patienten hatten bereits früher einen bösartigen Tumor.

Bei der Medikamenteneinnahme wurden folgende Kategorien beurteilt: Herzmedikamente (26,7%), Diuretika und Mukolytika (1,7%), Bronchospasmolytika (6,7%), NSAID (10%), nicht-opioide Schmerzmittel (10%), Opioide (5%), Steroide (3,3%), Magenmedikamente (16,7%), Antidiabetika (3%), SD-Hormone (13,3%), Vitamine/Elektrolyte (15%), Pflanzliche Mittel und Antidepressiva (1,7%), andere neurologische Medikamente (8,3%), homöopathische Mittel (0%),

Stoffwechselmedikamente (13,3%), Gerinnungshemmer (8,3%), Enzyme (3,3%) und andere Medikamente (6,7%).

Weiterhin gibt es einige klinische Eigenschaften, die sich sinnvoll nur getrennt nach Tumorentität darstellen lassen.

1.3.1.2. Basisstatistik nach Tumorentität

Um das Kollektiv der 60 Patienten (empfindlich und gematcht) mit dem Gesamtkollektiv der gescreenten Patienten vergleichen zu könne, werden hier die wesentlichen Parameter der Basisstatistik noch einmal getrennt nach Tumorentität aufgeführt und die Daten des Gesamtkollektivs danebengestellt. So bekommt man einen Eindruck davon, dass die beiden Kollektive sich klinisch nicht wesentlich unterschieden (Tabelle 2).

Tabelle 2: Basisstatistik der 60 Patienten (empfindlich und gematcht= Subgruppe) im Vergleich mit dem Gesamtkollektiv der gescreenten Patienten (=alle)

	Mundhöhle Subgruppe	Mundhöhle alle	Mamma Subgruppe	Mamma alle
Gesamtzahl	38	174	22	367
Davon weiblich	13 (43%)	44 (25,3%)	22 (100%)	365 (99,5%)
Alter	59,5 (37-78) J	60,6 (35-83)	57,5 (38-72) J	58,3 (30-92)
Untergewicht	5 (13%)	16 (9,2%)	1 (4,5%)	8 (2,2%)
Rezidiv	4 (10%)	17 (9,8%)	1 (4,5%)	21 (5,7%)
Karnofsky 90-100	34 (89,5%)	151 (86,8%)	21 (95,5%)	317 (95,9%)
Karnofsky <90	4 (10,5%)	23 (13,2%)	1 (4,5%)	50 (4,1%)
Schlechte Zähne	4 (10,5%)	20 (11%)		
Metallimplantate	7 (18,4%)	29 (16,7%)		
Nikotin w. RT	6 (16%)	45 (25,8)	3 (13,6%)	48 (13,1%)
Alkohol	9 (23,7%)	70 (40,2%)	8 (36,4%)	151 (41,1%)
Befindlichkeit (>1)	13 (34%)	77 (44,2%)	7 (31,8%)	227 (61,8%)
Beziehung (>1)	11 (29%)	51 (29%)	7 (31,8%)	140 (38,2%)
Pflege gut	36 (95%)	156 (89,6%)	22 (100%)	359 (97,8%)
Chemotherapie	9 (24%)	39 (22,4%)	12 (54,5%)	221 (60,2%)
Komorbiditäten	**und Medikation**			
Hypertonus	11 (29%)	44 (25,3%)	4 (18,8%)	97 (26,4%)
Rhythmusst.	4 (10,5%)	11 (6,3%)		27 (7,4%)
Nervenerkr.	5 (13,2%)	20 (11,5%)		28 (7,6%)
Knochen/Gelenke	10 (26,3%)	25 (14,4)	4 (18,8%)	64 (17,4%)
Schilddrüsen-KH	5 (13,2%)	9 (5,2%)	6 (27,2%)	64 (17,4%)
Magen/Darm-KH	5 (13,2%)	22 (12,6%)		25 (6,8%)
Herzmedikamente	13 (34%)	57 (32,8%)	3 (13,6%)	105 (28,6%)
Magenmed.	5 (13,2%)	24 (13,8%)	5 (22,7%)	35 (9,5%)
Steroide				7 (1,9%)
Neurolog. Med.	4 (10,5%)	13 (7,5%)	1 (4,5%)	30 (8,2%)
Tumorstadium	**und Histologie**			
T1 und T2	16 (42%)	62 (35,6%)	21 (95,4%)	303 (82,6%)
T3 und T4	21 (55,2%)	106 (61%)	1 (4,5%)	60 (16,3%)
Tx	1 (2,6%)	6 (3,4%)	0	4 (1,1%)
N0	13 (34,2%)	61 (35,1%)	14 (63,6%)	203 (55,3%)
N+	25 (65,8%)	113 (64,9%)	8 (36,4%)	164 (44,7%)
M0	36 (94,8%)	167 (96%)	22 (100%)	352 (95,9%)

1.3.1.3. Ergänzende Angaben zu den Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung

Tabelle 3: Ergänzende Angaben zu den Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung (Kollektiv wie Tabelle 2)

	Mundh. (38 Pat.)	Alle Mundh. (174)
Chemo-Substanzen		
Cisplatin	8 (21%)	40 (23%)
5-FU	3 (8%)	20 (11,5%)
Tumorlokalisation	**(Mehrfach-nen-**	**nung möglich)**
Mundhöhle	19 (49,6%)	80 (46%)
Nasopharynx	2 (5,2%)	14 (8%)
Oropharynx	8 (21%)	49 (28,2%)
Hypopharynx	7 (18,4%)	36 (20,7%)
Speicheldrüse	1 (2,6%)	4 (2,3%)
Nasennebenhöhlen	5 (13,2%)	15 (8,6%)
Kehlkopf	4 (10,5%)	29 (16,7%)
Operationen		
Stoma / Laryngektomie	9 (23,7%)	41 (23,6%)
Neck ipsilateral	22 (58%)	98 (56,3%)
LK-Operation kontralateral	7 (18,42%)	42 (24,1%)
Nur PE	14 (36,8%)	68 (39,1%)
Vollständige Resektion	11 (29%)	58 (33,3%)
R1 -Resektion	11 (29%)	41 (23,6%)
R2-Resektion	2 (5,2%)	7 (4%)
Plastische Deckung	6 (15,8%)	19 (11%)
Bestrahlungstechnik		
58 - 60 Gy	15 (39,5%)	64 (36,8%)
66 – 70 Gy konv.	11 (28,9%)	46 (26,4%)
Wendt-Schema (70,2Gy)	4 (10,5%)	24 (13,8%)
Conco-boost-Schema (72 Gy)	8 (21,1%)	40 (23%)
Kranial nur Cobalt 60/e-	13 (34,2%)	72 (41,4%)
Kranial nur 6MV	8 (21%)	29 (16,7%)
Anschluss Cobalt 60	34 (89,5%)	157 (90,2%)
Mundkeil	18 (47,4%)	62 (35,6%)
Histologie		
Adeno-Ca	4 (10,5%)	11 (6,3%)
PEC	34 (89,5%)	162 (93,1%)
Grading I u. II	29 (76,3%)	118 (67,8%)
Grading III u. IV	9 (23,7%)	56 (32,2%)

1.3.1.4. Ergänzende Angaben zu den Patienten mit Brustbestrahlung

Tabelle 4: Ergänzende Angaben zu den Patienten mit Brustbestrahlung (Kollektiv wie Tabelle 2)

	Mamma Subgruppe	Mamma alle
Chemotherapie-Substanzen		
EC	9 (40,9%)	153 (41,7%)
CMF	5 (22,7%)	69 (18,8%)
Antihormontherapie	14 (63,6%)	171 (46,6%)

Strahlentherapie	Mamma Subgruppe	Mamma alle
Einzeldosis 2 Gy	21 (95,5%)	364 (99,2%)
adjuvant	22 (100%)	353 (96,2%)
Bis 50 Gy	14 (63,6)	271 (73,8%)
60-70 Gy	8 (36,4%)	96 (26,2%)
Mit Lymphabfluss	8 (36,6%)	158 (43%)
Nur 6 MV	12 (54,5%)	230 (62,7%)
Nur 15 MV	1 (4,5%)	10 (2,7%)
Gemischt	9 (41%)	122 (33,3%)
ICRU-dosiert	11 (50%)	127 (34,6%)
Boost IORT	4 (18,2%)	29 (7,9%)
Boost Teletherapie	7 (31,8%)	93 (25,4%)
Tumorlokalisation		
Rechte Mamma	14 (63,6%)	190 (51,7%) *4x Mamma bds*
Linke Mamma	8 (36,4%)	181 (49,3%)
Operation		
Ablatio	2 (10%)	113 (30,8%)
BET	20 (90%)	250 (68,1%)
LNE	22 (100%)	352 (95,9%)
R0-Resektion	22 (100%)	340 (92,6%)
Serompunktion	3 (13,6%)	30 (8,7%)
Histologie		
Inv. Ductal	12 (54,5%)	219 (59,7%)
Inv. lobulär	2 (9,1%)	62 (16,9%)
Gemischt	5 (22,8%)	63 (17,1%
Medullär	1 (4,5%)	4 (1,1%)
Tubulär	2 (9,1%)	19 (5,2%)
Grading I u. II	17 (77,3%)	268 (73%)
Grading III u. IV	5 (22,7%)	99 (27%)

1.3.2. Matching

Wie bereits unter Durchführung des Projekts beschrieben, wurde nach Datenauswertung das matching-Verfahren überprüft. Da sich einige Parameter als relevant für Ausprägung von klinischer Reaktion oder aber biologischem in-vitro Ergebnis gezeigt hatten, wurde für die relevanten Kriterien, die von uns beim Matchingprozess während des Projektes aus organisatorischen Gründen unterschiedlich gehandhabt wurden, eine Rangliste erstellt und die Zuordnung einzelner Paare zueinander z.T. neu geordnet. Dabei waren vordringlich eine Übereinstimmung bei Chemotherapie und Gesamtdosis (einschließlich Fraktionierung), die deshalb doppelt gewichtet wurden; stimmten sie überein, wurden dem Paar 2 Punkte zugeordnet. Weiterhin wurden berücksichtigt und mit je einem Punkt einfach gewichtet: Alter (+/- 15 Jahre), Geschlecht und Allgemeinzustand (ECOG). Bei Brustbestrahlung wurde zusätzlich je ein Punkt vergeben, wenn die Patientinnen mit der antihormonellen Therapie (ja/nein) übereinstimmten und wenn im Rahmen der Chemotherapie die gleichen Medikamente eingesetzt worden waren. Bei den Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung wurden als zusätzliche Kriterien die Lokalisation des Tumors (Mundhöhle/Oropharynx/Hypopharynx/Kieferknochen/Speicheldrüse im Gegensatz zu allen anderen Lokalisationen) und die Zahl der Schleimhautareale im Feld eingesetzt und mit je einem Punkt einfach gewichtet. So konnte jedes gematchte Patientenpaar maximal 9 Punkte erreichen, und Ziel war eine Übereinstimmung in mindestens einem der beiden doppelt gewichtete Parameter und insgesamt nicht weniger als 5 Punkte.

Bei den 11 Paaren mit Mamma-Ca fand sich ein Paar mit nur 5 Punkten, jedoch Übereinstimmung bezüglich der Gesamtdosis. Ein weiteres Paar hatte 6 Punkte, die übrigen Paare 8 oder 9, insgesamt waren es im Durchschnitt 8,1 Punkte.

Bei den 19 Paaren mit Mundhöhlenbestrahlung ergab sich ein Paar mit nur 6 Punkten, bei diesem Paar lag Übereinstimmung bezüglich der Chemotherapie, nicht jedoch bezüglich der Gesamtdosis vor. 5 Paare erreichten 7 Punkte, die übrigen hatten 8 oder 9 Punkte, insgesamt ergab sich ein Durchschnitt von 7,8 Punkten.

Um einen direkten Einblick in das matching-Verfahren zu ermöglichen folgen ein paar wenige klinische Daten im Vergleich der beiden Gruppen (Empfindlich vs. Unempfindlich)..

Tabelle 5: Vergleich klinischer Daten der empfindlichen und der gematchten Patienten

	Empfindlich	unempfindlich
Alter	58	59
Geschlecht (m/f)	13 / 6	12 / 7
HNO – bis 66 Gy	14	12
HNO – 70,2 / 72 Gy	5	7
Mamma – 50 Gy	7	7
Mamma > 50 Gy	4	4
HNO – Rauchen akt.	4	2
Chemotherapie ja	10	10

Diese Änderung der Paarbildung nach Abschluss des Projektes führt wie dargelegt zu einer größeren Übereinstimmung innerhalb der Paare für klinische Parameter und Einflussfaktoren. Hätte man während der Projektdurchführung immer nur einen Patienten gematcht, der in allen Parametern identisch war, wäre die erforderliche Patientenzahl erst innerhalb eines wesentlich längeren Zeitraums erreicht worden. Eine solche Modifikation der Zuordnung ist so lange zulässig, wie Analysen nur als Gruppenvergleich durchgeführt werden: die Zusammensetzung der Gruppe wird ja durch Änderung der Zuordnung einzelner Paare nicht beeinflusst.

Allerdings wird ein Einflussfaktor, nämlich die Dosis der Teilkörperbestrahlung bei Blutabnahme, dabei nicht berücksichtigt. Da dieser Endpunkt für die Ergebnisse der in-vitro Untersuchungen relevant ist und man in diesem Fall durchaus Interesse daran hat, Vergleiche der Werte innerhalb der Paare durchzuführen, entsteht ein gewisser Konflikt. Für die Darstellung der Ergebnisse der strahlenbiologischen Untersuchungen in 1.3.4 wurde deshalb bei den Paar-Vergleichen auf die ursprüngliche, an der Teilkörperdosis bei Blutabnahme orientierte Matching-Paar-Bildung zurückgegriffen. Alle Darstellungen, bei denen ein Vergleich gruppenweise (E vs. M) stattfindet, bleiben bezogen auf die Paarbildung, die in den folgenden Tabellen bezüglich der klinischen Daten erfolgt. Der Bezug zum dosisadaptierten bzw. optimierten matching wird jeweils zu Beginn einer Analyse erwähnt.

1.3.2.1. Matching-Tabellen für Patientinnen mit Brustbestrahlung

Tabelle 6: Liste mit Punkten für matching (s. vorhergehender Abschnitt)

Pat_ID	Paar	Gr.	Ch.Th.		ZVOL		Alter		Sex		PS		Hormone		Ch.Med.		Sum
343	ee	E	sim.		50		59		w		100		nein		CMF		
475	ee	M	sequ. Vor	2	50	2	69	1	w	1	90	1	ja		CMF	1	8
476	u	E	sequ. Vor		66		46		w		100		nein		EC		
484	u	M	sequ. vor	2	66	2	52	1	w		90	1	nein	1	EC	1	9

Pat_ID	Paar	Gr.	Ch.Th.		ZVOL		Alter		Sex		PS		Hormone		Ch.Med.		Sum
125	v	E	nein		66		54		w		100		nein		keine		
210	v	M	nein	2	66	2	52	1	w	1	100	1	nein	1	keine	1	9
199	w	E	sim./sequ.		60		55		w		100		nein		EC/CMF		
493	w	M	nein		66	2	48	1	w	1	100	1	ja		keine		5
433	x	E	nein		50		57		w		100		ja		keine		
536	x	M	nein	2	50	2	72	1	w	1	80		nein		keine	1	6
212	y	E	nein		50		49		w		100		nein		keine		
403	y	M	nein	2	50	2	64	1	w	1	100	1	nein	1	keine	1	9
558	z	E	nein		66		51		w		100		nein		keine		
73	z	M	sequ. nach	2	66	2	38	1	w	1	100	1	nein	1	nach	1	9
470	aa	E	sim.		50		56		w		100		nein		EC		
517	aa	M	sequ. Vor	2	50	2	66	1	w	1	100	1	nein	1	EC	1	9
126	bb	E	sequ. Vor		50		66		w		90		nein		CMF		
444	bb	M	sequ. vor	2	50	2	64	1	w	1	90	1	nein	1	EC		8
208	cc	E	nein		50		67		w		100		nein		keine		
214	cc	M	nein	2	50	2	72	1	w	1	100	1	nein	1	keine	1	9
128	dd	E	sim./sequ.		50		50		w		100		nein		EC/CMF		
346	dd	M	sequ. Vor	2	50	2	59	1	w	1	100	1	ja		EC	1	8

Tabelle 7: Liste mit weiteren klinischen Informationen

Pat_ID	Paarung	Gr.	BMI	Nik	Alk	Diab.	Hypert.	Steroide	Hormone
343	ee	E	29,4	nein	nein	nein	nein	nein	nein
475	ee	M	24,7	nein	selten	nein	nein	nein	ja
476	u	E	21,8	nein	nein	nein	nein	nein	nein
484	u	M	40,1	nein	nein	nein	nein	nein	nein
125	v	E	29,8	nein	nein	nein	nein	nein	nein
210	v	M	26,4	ja	nein	nein	nein	nein	nein
199	w	E	35,5	nein	selten	nein	nein	nein	nein
493	w	M	23,7	nein	selten	nein	nein	nein	ja
433	x	E	34,6	nein	selten	nein	nein	nein	ja
536	x	M	27,5	nein	nein	nein	nein	nein	nein
212	y	E	30,1	nein	nein	nein	ja	nein	nein
403	y	M	22,3	nein	selten	nein	nein	nein	nein
558	z	E	26,8	ja	selten	nein	nein	nein	nein
73	z	M	22,9	nein	nein	nein	nein	nein	nein
470	aa	E	31,5	nein	nein	nein	nein	nein	nein
517	aa	M	25,9	nein	selten	nein	nein	nein	nein

Pat_ID	Paarung	Gr.	BMI	Nik	Alk	Diab.	Hypert.	Steroide	Hormone
126	bb	E	25,4	nein	nein	nein	nein	nein	nein
444	bb	M	28	ja	nein	ja	ja	nein	nein
208	cc	E	25,3	nein	nein	ja	ja	nein	nein
214	cc	M	30,5	nein	nein	nein	nein	nein	nein
128	dd	E	35,1	ja	nein	nein	ja	nein	nein
346	dd	M	18,4	nein	selten	nein	nein	nein	ja

Tabelle 8: Liste mit Informationen zu Stadium und Bestrahlung

Pat_ID	Paar	Gr.	TNM-System	Stad.	Histol.	RTvRT	Konzept	EDOS
343	ee	E	T2N1M0	IIB	inv.duc.	nein	adjuvant	2
475	ee	M	T2N0M0	IIA	gemischt	nein	adjuvant	2
476	u	E	T1N0M0	I	gemischt	nein	adjuvant	2
484	u	M	T2N0M0	IIA	gemischt	nein	adjuvant	2
125	v	E	T1N0M0	I	inv.duc.	nein	adjuvant	2
210	v	M	T1N0M0	I	inv.lob.	nein	adjuvant	2
199	w	E	T4N1M0	IIIB	inv.duc.	nein	adjuvant	2
493	w	M	T1N0M0	I	tubulär	nein	adjuvant	2
433	x	E	T1N0M0	I	inv.duc.	nein	adjuvant	1,8
536	x	M	T2N0M0	IIA	gemischt	nein	adjuvant	2
212	y	E	T1N1M0	IIA	inv.duc	nein	adjuvant	2
403	y	M	T1N1M0	IIA	inv.duc.	nein	adjuvant	2
558	z	E	T1N0M0	I	inv.duc.	nein	adjuvant	2
73	z	M	T2N0M0	IIA	medullär	nein	adjuvant	2
470	aa	E	T1N0M0	I	inv.duc.	nein	adjuvant	2
517	aa	M	T2N1M0	IIB	inv.duc.	nein	adjuvant	2
126	bb	E	T2N0M0	IIA	inv.lob.	nein	adjuvant	2
444	bb	M	T1N1M0	IIA	tubulär	nein	adjuvant	2
208	cc	E	T1N0M0	I	inv.duc.	nein	adjuvant	2
214	cc	M	T1N0M0	I	inv.duc.	nein	adjuvant	2
128	dd	E	T2N1M0	IIB	inv.duc.	nein	adjuvant	2
346	dd	M	T2N1M0	IIB	gemischt	nein	adjuvant	2

1.3.2.2. Matching-Tabellen für Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung

Tabelle 9: Aufstellung mit Punkten für matching

Pat_ID	Paar	Gr.	ZVOL		Ch.Th.		Alter		Sex		PS		Lok.	Lokgr.		Feld		Sum
209	a	E	60		nein		46		m		90		OP	Mund		14		
539	a	M	72		nein	2	53	1	m	1	90	1	HP	Mund	1	14	1	7
277	b	E	60		nein		68		m		100		NHH	Nase		17		
519	b	M	72		nein	2	71	1	m	1	80		KK	Nase	1	16	1	6
182	c	E	66		nein		78		w		70		MH	Mund		13		
535	c	M	72		nein	2	61	1	w	1	80	1	OP	Mund	1	12	1	7
213	d	E	60		nein		58		m		100		MH/NP	Mund		11		
481	d	M	66	2	nein	2	62	1	w		100	1	MH	Mund	1	15	1	8
528	e	E	60		nein		52		m		100		MB	Mund		17		
555	e	M	58	2	nein	2	37	1	m	1	100	1	KH/STH	Nase		17	1	8
124	f	E	66		nein		67		m		100		OP	Mund		11		
540	f	M	66	2	nein	2	54	1	w		100	1	SPD	Mund	1	11	1	8
334	g	E	66		nein		60		w		90		MH	Mund		17		
378	g	M	70-2	2	sim.		63	1	w	1	90	1	MH	Mund	1	18	1	7
557	h	E	70,2		sim.		55		m		100		MH	Mund		15		
122	h	M	70,2	2	sim.	2	59	1	w	1	90	1	OP/HP	Mund	1	8		8
522	i	E	70,2		sim.		66		m		90		MH	Mund		16		
556	i	M	70,2	2	sim.	2	66	1	m	1	100	1	KK	Nase		7		7
445	k	E	66		sim.		47		w		100		MH	Mund		11		
547	k	M	60	2	sim.	2	60	1	m		100	1	KH	Mund	1	9	1	8
491	l	E	66		nein		66		w		90		MH	Mund		13		
554	l	M	66	2	nein	2	64	1	m		100	1	MH	Mund	1	12	1	8
550	m	E	72		nein		68		m		100		MH	Mund		15		
541	m	M	72	2	nein	2	65	1	m	1	80		OP/HP	Mund	1	17	1	8
114	n	E	72		nein		53		m		100		MH	Mund		11		
365	n	M	72	2	nein	2	53	1	m	1	90	1	OP	Mund	1	9	1	9
267	o	E	60		nein		66		w		100		NP	Nase		17		
553	o	M	60	2	nein	2	66	1	w	1	100	1	KK	Nase	1	5		8
559	p	E	72		sim.		52		m		100		OP	Mund		17		
533	p	M	66		sim.	2	47	1	m	1	100	1	MH	Mund	1	17	1	7
129	q	E	60		nein		73		m		90		HP	Mund		5		
551	q	M	60	2	nein	2	57	1	m	1	90	1	NHH	Nase		8	1	8
191	r	E	60		nein		63		m		100		MH	Mund		15		
280	r	M	66	2	nein	2	57	1	m	1	100	1	MH	Mund	1	14	1	9
123	s	E	60		nein		58		w		90		MH	Mund		16		
282	s	M	60	2	nein	2	57	1	w	1	100	1	MH	Mund	1	18	1	9
127	t	E	60		nein		52		m		100		MH	Mund		11		
396	t	M	60	2	nein	2	63	1	m	1	100	1	HP	Mund	1	9	1	9

Tabelle10: Liste mit weiteren klinischen Informationen

Pat_ID	Nr.	Gr.	Nik	Alk	Diab.	Hypert.	Stadium	Lok.	Histol.	RTvRT	Konzept	EDOS
334	1	E	ja	nein	nein	nein	T2N0M0	MH	PEC	nein	adjuvant	2
535	1	M	nein	nein	nein	nein	T4N2M0	OP	PEC	nein	conco	1,8
191	2	E	nein	nein	nein	nein	T2N2M0	MH	PEC	nein	adjuvant	2
280	2	M	ja	nein	nein	nein	T2N2M0	MH	PEC	nein	adjuvant	2
277	3	E	nein	nein	nein	nein	T2N0M0	NHH	Adeno	ja(a.R.)	adjuvant	2
533	3	M	nein	nein	nein	nein	T4N3M1	MH	PEC	nein	adjuvant	2
124	4	E	nein	nein	ja	ja	T1N0M0	OP	PEC	nein	adjuvant	2
547	4	M	nein	nein	nein	nein	T4N0M0	KH	PEC	nein	adjuvant	2
123	5	E	nein	nein	nein	nein	T1N1M0	MH	PEC	nein	adjuvant	2
282	5	M	nein	nein	nein	nein	T4N2M0	MH	PEC	nein	adjuvant	2
127	6	E	ja	ja	nein	nein	T3N0M0	MH	PEC	nein	adjuvant	2
396	6	M	ja	ja	nein	ja	T2N1M0	HP	PEC	nein	adjuvant	2
559	7	E	nein	ja	nein	nein	T3N2M0	OP	PEC	nein	conco	1,8
555	7	M	nein	nein	nein	ja	T2N0M0	KH/STH	Adeno	nein	adjuvant	2
445	8	E	nein	nein	nein	ja	T4N0M0	MH	PEC	nein	adjuvant	2
540	8	M	nein	nein	nein	nein	T2N0M0	SPD	Adeno	nein	adjuvant	2
557	9	E	ja	nein	nein	ja	T4N0M0	MH	PEC	nein	Wendt	1,8
556	9	M	ja	nein	nein	nein	T3N2M0	KK	PEC	nein	Wendt	1,8
522	10	E	nein	nein	nein	nein	T2N1M0	MH	PEC	nein	Wendt	1,8
122	10	M	ja	ja	nein	nein	T3N1M0	OP/HP	PEC	nein	Wendt	1,8
209	11	E	ja	ja	nein	nein	T2N2M0	OP	PEC	nein	adjuvant	2
519	11	M	ja	ja	nein	nein	T2N2M1	KK	PEC	nein	conco	1,8
550	12	E	ja	nein	nein	nein	T4N0M0	MH	PEC	nein	Concboost	1,8
554	12	M	nein	nein	nein	ja	T4N2M0	MH	PEC	nein	adjuvant	2
528	13	E	ja	ja	nein	nein	TxN1M0		PEC	nein	adjuvant	2
551	13	M	nein	nein	nein	nein	T4N0M0	NHH	Adeno	nein	palliativ	2
129	14	E	ja	nein	nein	nein	T4N2M0	HP	PEC	nein	adjuvant	2
541	14	M	ja	nein	nein	ja	T4N2M0	OP/HP	PEC	nein	conco	1,8
114	15	E	ja	ja	nein	nein	T2N0M0	MH	PEC	nein	conco	1,8
365	15	M	nein	nein	nein	nein	T4N2M0	OP	PEC	nein	adjuvant	1,8
182	16	E	nein	nein	nein	ja	T4N2M0	MH	PEC	nein	adjuvant	2
481	16	M	ja	nein	nein	ja	T4N2M0	MH	PEC	nein	adjuvant	2
267	17	E	nein	nein	nein	nein	T4N2M0	NP	PEC	nein	primär kurativ	2
553	17	M	ja	nein	nein	ja	T2N1M0	KK	PEC	nein	adjuvant	2
491	18	E	nein	nein	nein	nein	T2N2M0	MH	PEC	nein	adjuvant	2
378	18	M	ja	ja	nein	ja	T3N1M0	MH	PEC	nein	adjuvant	2
213	19	E	nein	nein	nein	nein	T1N0M0	MH/NP	PEC	nein	adjuvant	2
539	19	M	ja	nein	nein	nein	T4N3M0	HP	PEC	nein	conco	1,8

1.3.3. Ausprägung der Nebenwirkungen im Vergleich Empfindliche/Unempfindliche

Wegen der unterschiedlichen Toxizitätsmuster der beiden Tumorentitäten werden auch hier wieder die Patientinnen mit Brustbestrahlung von den Patientinnen und Patienten mit Mundhöhlenbestrahlung dargestellt.

Diese werden jetzt vollständig gezeigt (dh. alle Schweregrade für alle erfassten Organe und Funktionen) mit der jeweils schwersten maximalen Ausprägung. Weiterhin erfolgt bezüglich der als Zielkriterium der Untersuchung geltenden Gewebe (Haut bei Brustbestrahlung und Schleimhaut bei Mundhöhlenbestrahlung) eine detaillierte Analyse über den Zeitverlauf der Nebenwirkungen und die AUC, wie im Antrag vorgesehen.

1.3.3.1. Akute Nebenwirkungen der Brustbestrahlung

Hier sind jeweils 11 Patientinnen pro Gruppe eingeschlossen. Keine Nebenwirkungen wurden für die folgenden Organe und Funktionen erfasst: Pharynx, Ernährung, Diarrhoe und Ohr.

Tabelle 11: Nebenwirkungen bei den Patientinnen mit Mamma-Ca

	Empfindlich	unempfindlich
Allgemeinbefinden I°	45,5%	72%
II°		9%
Speicheldrüse I°	0%	27%
Übelkeit I°	18%	9%
Larynx I°	0%	9%
ZNS I°	18%	0%
Lymphödem I°	27%	27%
II°	9%	
Lunge I°	18%	18%
II°		9%
Herz	18%	
Fatigue I°	64%	55%
II°	63%	36%
Schmerzen I°	27%	27%
II°	45%	9%
III°		9%
Geschmack I°	9%	9%
Haut I°		72%
II°	36%	27%
III°	63%	

Vergleicht man hier E und U, so finden sich deutliche Unterschiede nur bezogen auf die Haut; alle anderen Parameter sind vergleichbar. Somit scheint ein Zusammenhang der Normalgewebsreaktion an der Haut und an anderen Geweben nicht gegeben.

1.3.3.2. Akute Nebenwirkungen der Mundhöhlenbestrahlung

Keine Nebenwirkungen fanden sich in dieser Gruppe mit je 19 Patienten bei folgenden Strukturen: Auge, Diarrhoe, Lunge.

Tabelle 12: Nebenwirkungen bei den Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren

	Empfindlich	unempfindlich
Allgemeinbefinden I°	26%	21%
II°	21%	42%
III°	42%	10%
IV°		5%
Speicheldrüse I°		
Ernährung I°	26%	10%
II°	21%	32%
III°	42%	42%
Übelkeit I°	21%	32%
II°	21%	16%
III°	10%	
Larynx I°	21%	21%
II°	42%	21%
III°	21%	5%

	Empfindlich	unempfindlich
ZNS I°	5%	5%
II°	10%	10%
Lymphödem I°	47%	
II°	10%	
III°	5%	
Auge II°		10%
III°		5%
Ohr I°	10%	10%
II°	10%	
Lunge I°		
II°		
Herz I°	5%	5%
Fatigue I°	31%	37%
II°	53%	47%
III°	16%	16%
Schmerzen I°	5%	21%
II°	27%	8%
III°	86%	20%
Geschmack I°	10%	26%
II°	42%	32%
III°	26%	5%
Pharynx I°	5%	10%
II°	26%	47%
III°	68%	26%
Haut I°	21%	16%
II°	47%	58%
III°	32%	26%
Schleimhaut I°		5%
II°		42%
III°	100%	47%

Vergleicht man hier E und U, so zeigen die Veränderungen an ZNS, Auge, Ohr, Lunge und Herz keine wesentlichen Unterschiede. Die Fatigue ist in Auftreten und Schweregraden in beiden Gruppen vergleichbar. Allerdings findet sich ein Lymphödem egal welchen Schweregrades nur bei empfindlichen Patienten (insgesamt 62%), bei den nicht-empfindlichen gar nicht. Bezüglich der Häufigkeit einer Grad III Reaktion für Schmerz, Geschmack, Schluckbeschwerden, Haut und Schleimhaut finden sich ausgeprägte Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

1.3.3.3. Zusammenfassende Beurteilung

Vergleicht man bei Brustbestrahlung empfindliche und nicht empfindliche Patienten, so finden sich deutliche Unterschiede nur bezogen auf die Haut; alle anderen Parameter sind vergleichbar. Bei Kopf-Hals-Bestrahlung sind jedoch viele Endpunkte deutlich unterschiedlich: Lymphödem, Schmerz, Geschmack, Schlucken, Haut- und Schleimhautreaktion.

1.3.4 Strahlenbiologische Charakterisierung der 60 Patienten

Im folgenden Teil werden die erhobenen strahlenbiologischen Ergebnisse ausführlich dargestellt und in verschiedenen Variationen von Subgruppen verglichen. Dies soll zeigen, welche Ausprägung der untersuchte Parameter in der untersuchten Patientengruppe hat und welche Zusammenhänge bei einer explorativen Analyse zur Darstellung kommen. Für weitere Analysen, die sich vielleicht in Zukunft ergeben und seitens des BfS an unseren Daten erforderlich scheinen, findet sich die Tabelle mit den wesentlichen Zusatzinformationen und allen biologischen Ergebnissen im Anhang.

1.3.4.1 Dizentrische Chromosomen

Abb. 10: Dizentrics sortiert nach Wert, alle 60 Pat.

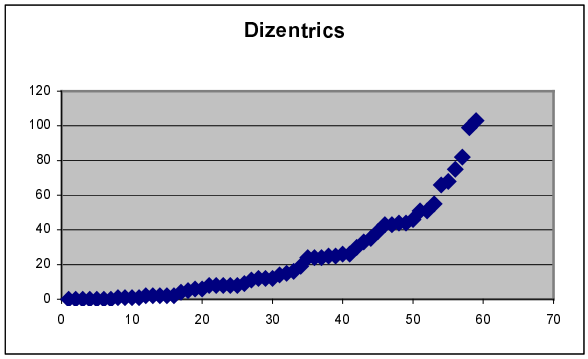
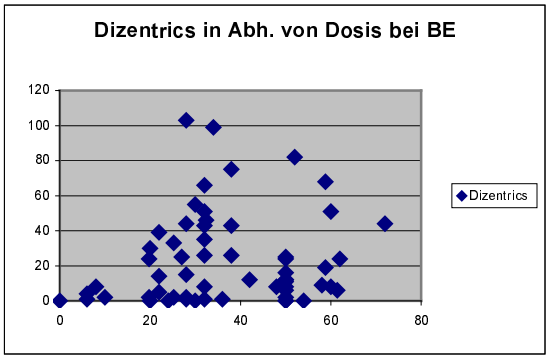


Abb. 11: Dizentrics in Abhängigkeit von Dosis bei Blutabnahme (alle 60 Pat.)



Die schlichte Auftragung der dizentrischen Chromosomen über die Gesamtgruppe der 60 Patienten zeigt eine deutliche Streubreite der Werte von 0 bis 103 pro 200 ausgezählten Zellen im ersten Teilungszyklus. Eine eindeutige Steigerung der Zahl dizentrischer Chromosomen in Abhängigkeit von der Teilkörperdosis bei Blutabnahme findet sich nicht. Die beiden Patienten, bei denen auch Zellen im zweiten Teilungszyklus berücksichtigt wurden, haben nicht auffällig andere Werte als die anderen Patienten (MW 5 Dizentrics spontan, 27 nach Bestrahlung).

Abb. 12 Dizentrics im Frischblut (dic), nach in-vitro-Bestrahlung (dicrad) und die Differenz beider Werte (diffradunraddic)

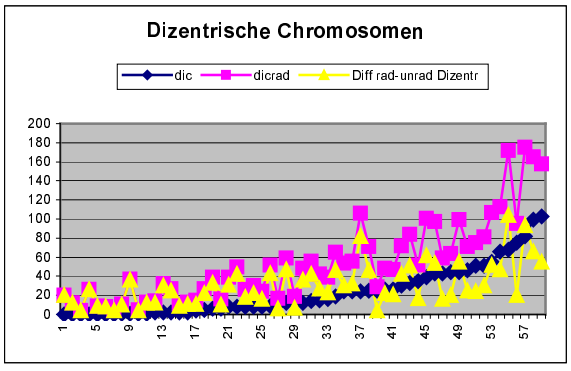


Abb. 13: Dizentrics nach Dosis bei BE in Frischblut (dic) und nach in-vitro-Bestrahlung (dicrad)

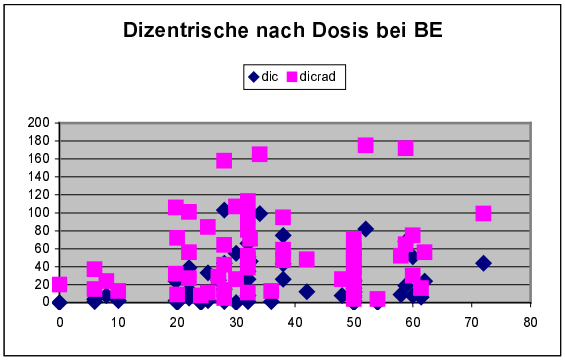
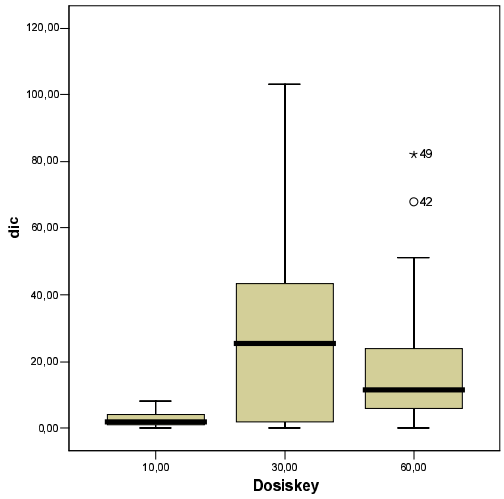


Abb. 14: Dizentrics, gruppiert nach Dosis bei Blutabnahme
(bis 10 Gy=10, 20bis 40 Gy=30, 48 bis 72 Gy=60)



Dies gilt genauso für die Zahl der dizentrischen Chromosomen nach Radiatio der Probe mit 2 Gy und setzt sich demnach auch fort, wenn die Differenz zwischen unbestrahlter und bestrahlter Probe betrachtet wird. Trennt man die Daten nach Diagnose, so finden sich ähnliche Kurvenverläufe wie in der Gesamtgruppe. Ein wesentlicher Unterschied zwischen den Diagnosegruppen findet sich nicht.

Abb. 15: Dizentrische Chromosomen nach Tumorentität
Abb. 15a: Patientinnen mit Mamma-Ca

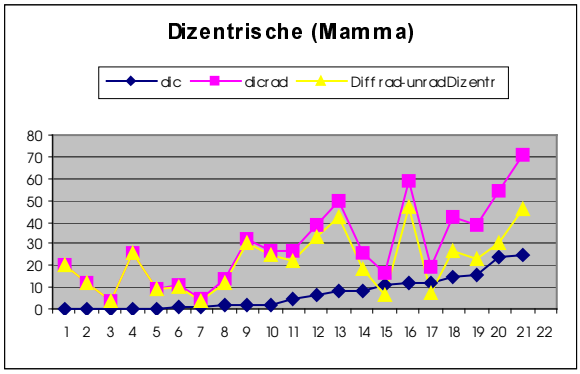
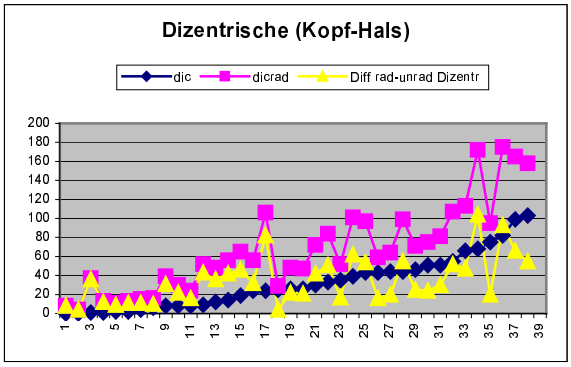


Abb. 15b: Patienten mit Kopf-Hals-Tumor



Die Zahl der Dizentrics wird bei Patientinnen mit Mamma-Ca signifikant vom bestrahlten Volumen beeinflusst (siehe 1.3.5.1). Ein möglicher Grund für die große Streuung im Gesamtkollektiv kann demnach das Bestrahlungsvolumen sein, dass bei Pat. mit Kopf-Hals-Bestrahlung jedoch schlecht quantifiziert werden kann. Ein Zusammenhang mit der Dosis bei Blutabnahme scheint nicht gegeben zu sein.

1.3.4.2 Fragmente

Die Zahl der Fragmente zeigt nach Bestrahlung mit 2 Gy höhere Werte als ohne in-vitro Bestrahlung und eine größere Streubreite. Es zeigt sich keine Abhängigkeit von der Dosis der Teilkörperbestrahlung bei Blutabnahme.

Abb. 16: Fragmente im Frischblut (frag), nach in-vitro-Bestrahlung (fragrad) und die Differenz beider Werte (diffradunradfrag)

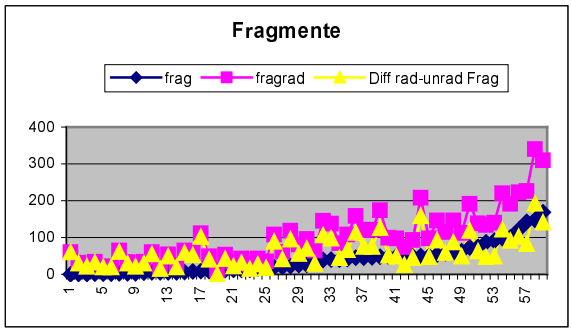
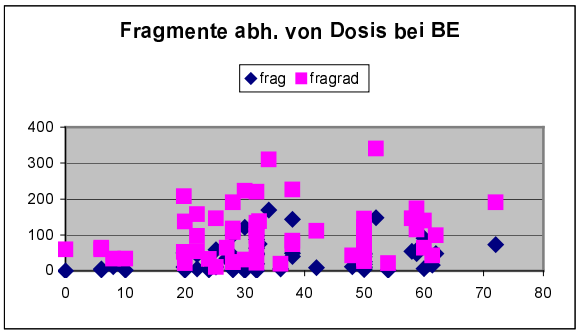


Abb. 17: Fragmente abhängig von der Dosis bei Blutabnahme im Frischblut (frag) und nach in-vitro-Bestrahlung (fragrad)



Die Streuung ist bei Patienten mit Kopf-Hals-Bestrahlung größer; hier ist allerdings auch das Kollektiv größer, sodass dieser Eindruck täuschen kann. Wesentliche Unterschiede finden sich hier nicht.

Abb. 18: Fragmente nach Tumorentität

Abb. 18a: Patientinnen mit Mamma-Ca

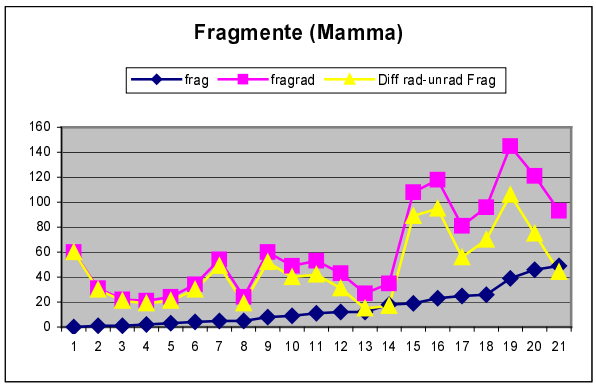
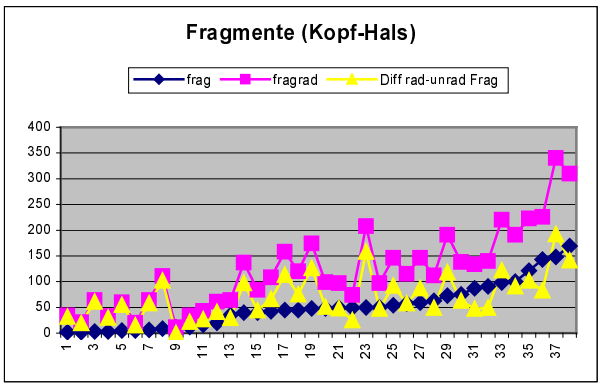


Abb 18b: Patienten mit Kopf-Hals-Tumor



1.3.4.3 Translokationen

Auch die Inzidenz von Translokationen (soweit sie in dieser Färbung auffallen, es ist keine Bänderung erfolgt oder gezielt danach gesucht worden) zeigt eine gewisse Streuung, ist nicht abhängig von der Dosis bei Blutabnahme und unterscheidet sich zwischen den Diagnosegruppen nicht.

Abb. 19: Translokationen im Frischblut (trans), nach in-vitro-Bestrahlung (transrad) und die Differenz beider Werte (diffradunradtrans)

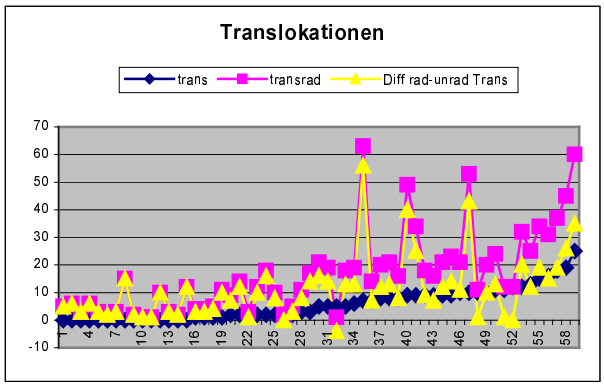


Abb. 20: Translokationen abhängig von der Dosis bei Blutabnahme im Frischblut (trans) und nach in-vitro-Bestrahlung (transrad)

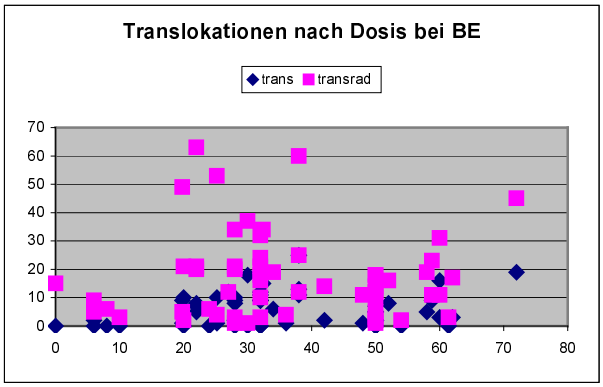


Abb. 21: Translokationen nach Tumorentität

Abb 21a: Translokationen bei Patientinnen mit Mamma-Ca

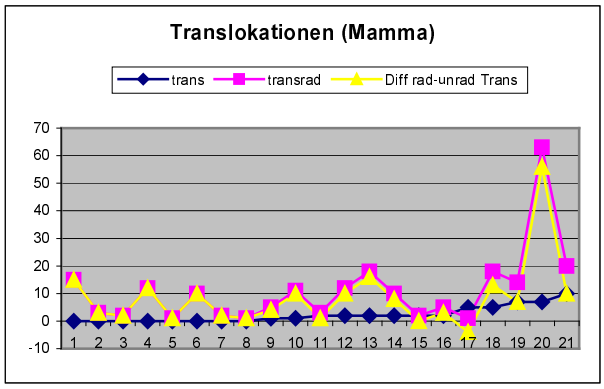
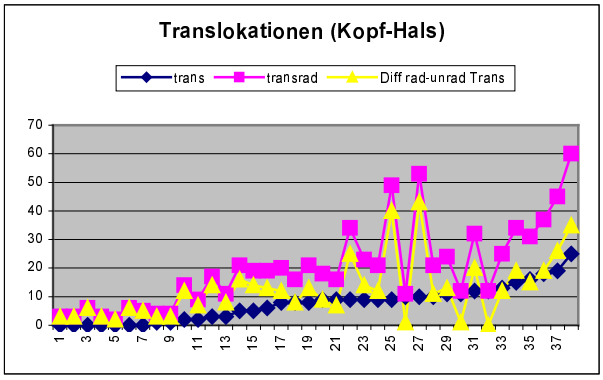


Abb 21b: Translokationen bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumor



1.3.4.4 Tetraploide

Die Zahl der tetraploiden Zellen war insgesamt sehr gering, so dass eine getrennte Auswertung nicht sinnvoll erschien. Sie wurden jedoch bei der Summe der Bruchereignisse und den Bruchereignissen pro Zelle berücksichtigt.

1.3.4.5 Summe aller Bruchereignisse und Bruchereignisse pro Zelle

Für die Zusammenfassende Bewertung der Chromosomenanalyse wurden zwei weitere Parameter eingeführt. Zum einen wurden alle in den zweihundert Zellen beobachteten Bruchereignisse addiert (Summe der Bruchereignisse). Zum anderen wurde diese Zahl durch 200 geteilt, um so einen Wert für „Bruchereignisse pro Zelle“ zu bekommen.

Die Summe der Bruchereignisse zeigt eine Streuung, die unabhängig von der Tumordiagnose ausfällt. Die Zahl zeigt keinen eindeutigen Anstieg mit der Dosis bei Blutabnahme. Nach Bestrahlung mit 2 Gy ist die Zahl höher.

Abb. 22a: Summe aller Bruchereignisse im Frischblut (sum), nach in-vitro-Bestrahlung (sumrad) und die Differenz beider Werte (diffsum)

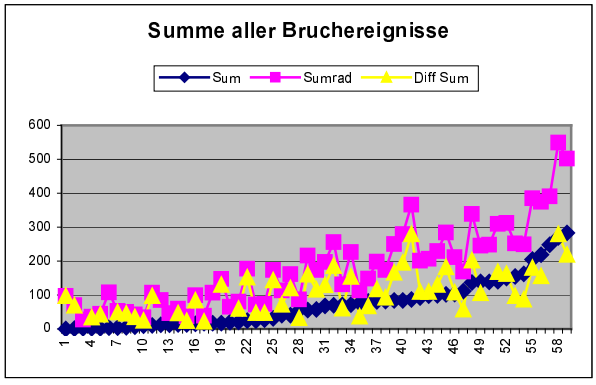


Abb. 22b: Summe aller Bruchereignisse nach Dosis bei Blutabnahme im Frischblut (sum) und nach in-vitro-Bestrahlung (sumrad)

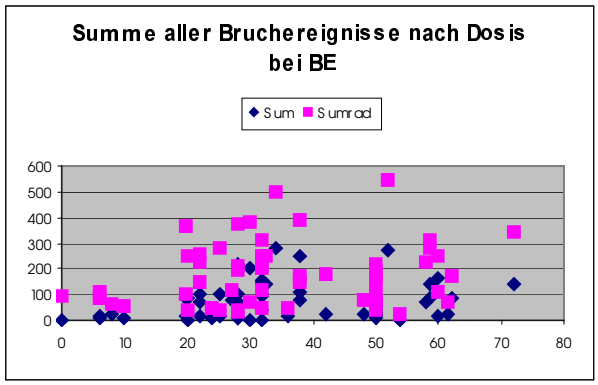


Abb. 23: Summe aller Bruchereignisse nach Tumorentität

Abb. 23a: Patientinnen mit Mamma-Ca

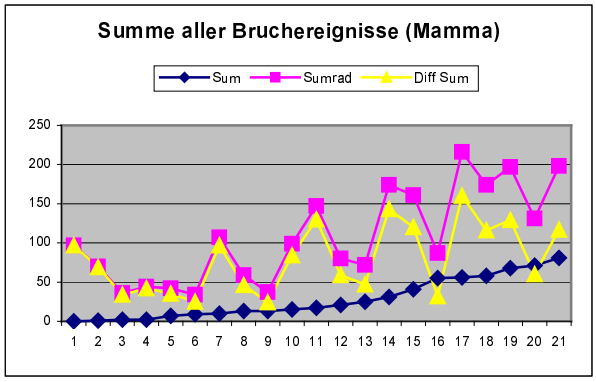
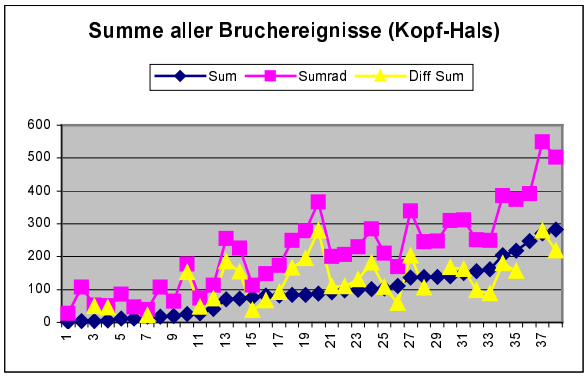


Abb. 23b: Patienten mit Kopf-Hals-Tumor



Betrachtet man die Bruchereignisse pro Zelle (BpZ) so zeigen sich ähnliche Verläufe der Kurven, keine Abhängigkeit von der Dosis bei Blutabnahme und kein wesentlicher Unterschied zwischen den Tumorentitäten.

Abb. 24a: Bruchereignisse pro Zelle im Frischblut (BpZ), nach in-vitro-Bestrahlung (BpZrad) und die Differenz beider Werte (Bpzrad-BpZunrad)

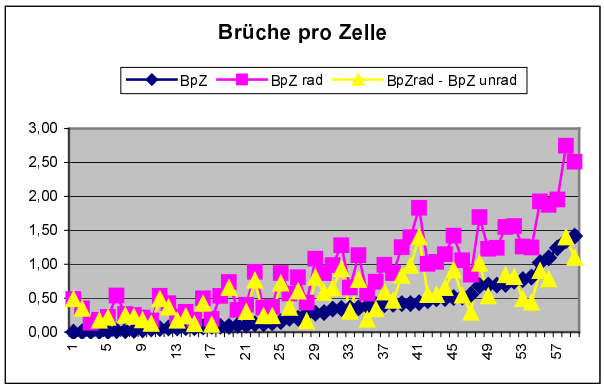


Abb. 24b: Bruchereignisse pro Zelle nach Dosis bei Blutabnahme im Frischblut (BpZ) und nach in-vitro-Bestrahlung (BpZrad)

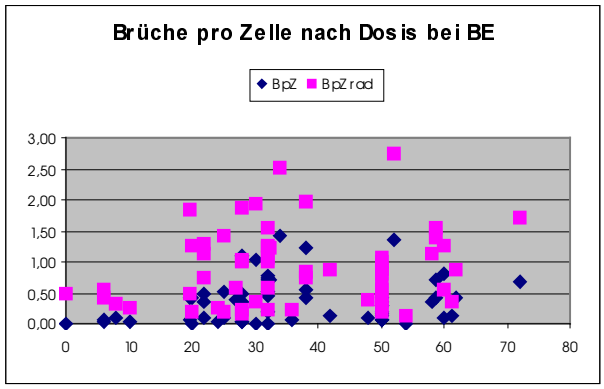


Abb. 25: Bruchereignisse pro Zelle nach Tumorentität

Abb. 25a: Patientinnen mit Mamma-Ca.

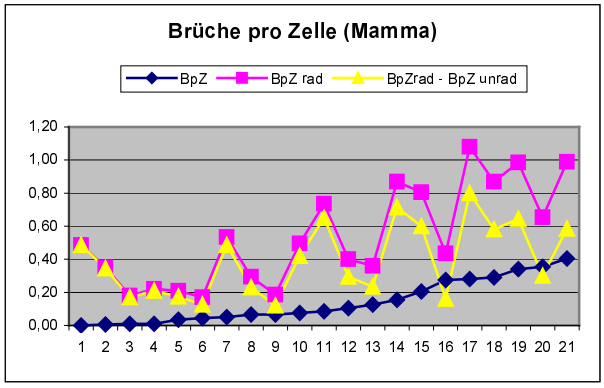
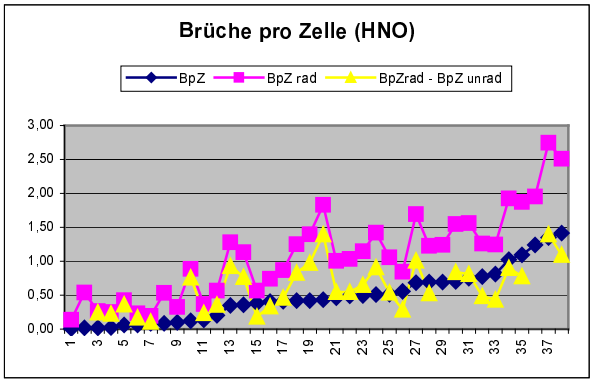


Abb 25b: Patienten mit Kopf-Hals-Tumor



1.3.4.6.1 Mikronuklei

Die Mikronuklei wurden zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmt. Zunächst wurde direkt nach Blutabnahme und Lymphozytenisolierung die Spontanrate gemessen (MN direkt). Diese zeigen eine Streubreite von 0,3 bis 4,3, die bei Mamma-Patientinnen etwas geringer ist als bei Kopf-Hals-Patienten. Sie steigen mit der Dosis bei Blutabnahme nicht an.

Abb. 26a: Mikronuklei im Frischblut (Mndir)

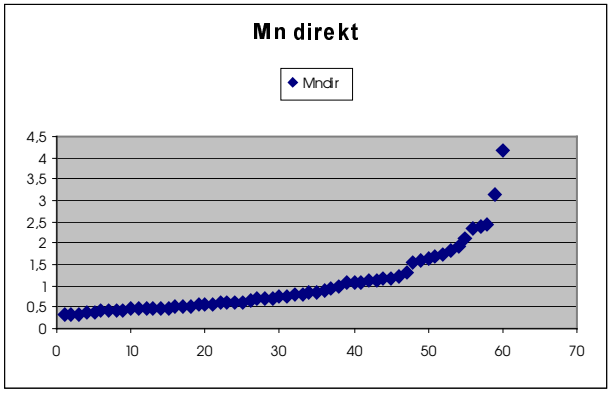


Abb. 26b: Mikronuklei im Frischblut nach Dosis bei Blutabnahme (Mndir)

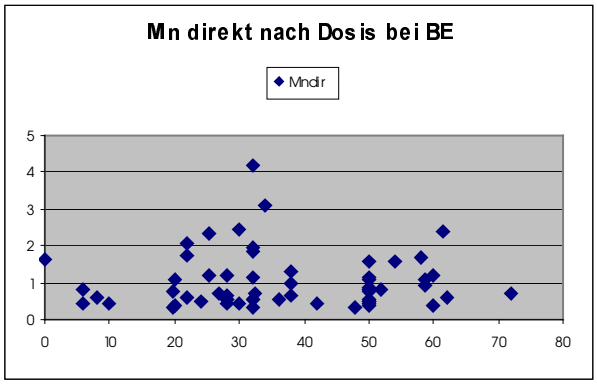
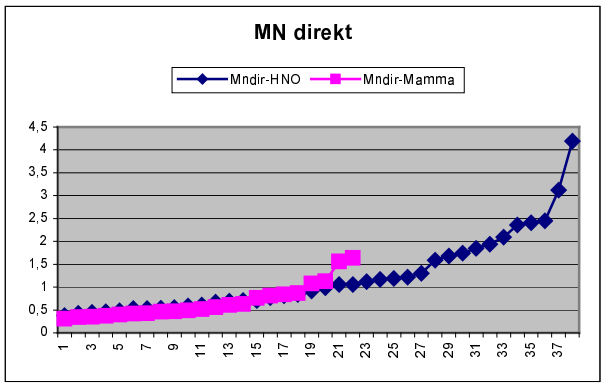


Abb. 27: Mikronuklei im Frischblut nach Tumorentität



Nach Inkubation und Bestrahlung mit verschiedenen Dosen (die 0 Gy Probe wurde identisch behandelt, nur wurde keine Dosis appliziert) wurden erneut die Mikronuklei bestimmt. Die Darstellung erfolgt hier in Form von Dosis-Wirkungs-Beziehungs-Kurven. Der erwartete Anstieg der Mikronuklei mit der Bestrahlungsdosis bleibt aus und findet sich auch in der Subgruppenanalyse nicht. Dieses überraschende Ergebnis ist zunächst schwer zu erklären. Möglicherweise führt das Prozessieren durch Inkubation und Bestrahlung bereits zu einer so deutlichen Zunahme der Mikronuklei, dass der Dosiseffekt dahinter verschwindet.

Abb. 28: Mikronuklei (alle Pat., Dosiseffektkurve)

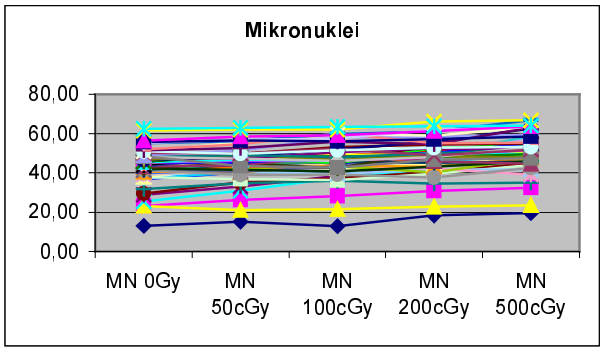
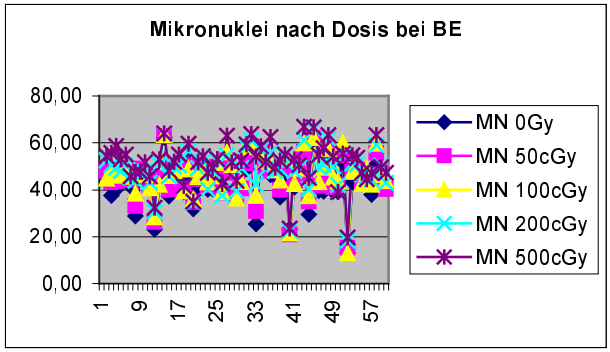


Abb. 29: Mikronuklei nach Dosis bei Blutabnahme



Zieht man von jedem Dosispunkt die Rate der MN bei 0 Gy ab wird nur der Dosiseffekt dargestellt. Hier kann jetzt deutlich gezeigt werden, dass die Rate der MN-direkt mit der Dosis steigt, wobei das Ausmaß dieses Effektes bei den Diagnosen wieder leicht unterschiedlich ist.

Abb. 30: Mikronuklei – Dosiseffektkurven mit Abzug des 0-Wertes von den Werten bei jeweils mit einer bestimmten Dosis bestrahlten Proben

Abb. 30a: Patientinnen mit Mamma-Ca

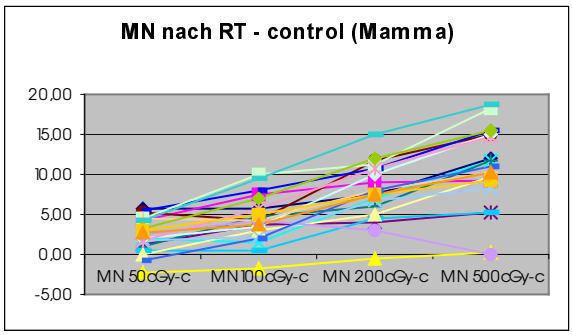
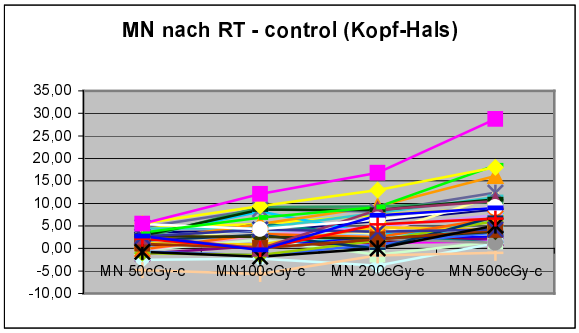


Abb. 30b: Patienten mit Kopf-Hals-Tumor



1.3.4.7 Antioxidative Kapazität

Die Werte für antioxidative Kapazität wurden mit zwei Methoden bestimmt (s. Methodenteil), die hier jeweils nebeneinander dargestellt werden. Es zeigt sich, dass bei der TPTZ-Methode eine größere Streubreite der Werte vorliegt, beide Methoden nicht vergleichbare Werte erzeugen und zwischen den Tumorentitäten kein wesentlicher Unterschied besteht.

Abb. 31: Antioxidative Kapazität (2 Methoden)

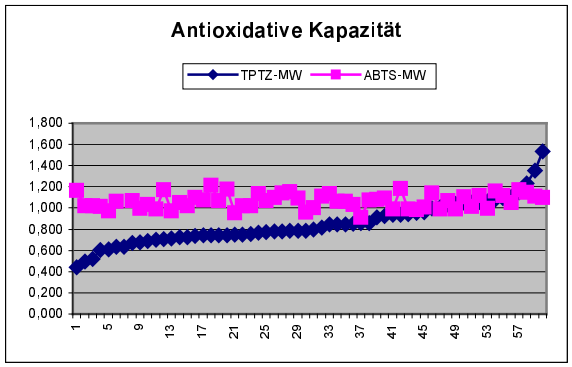


Abb. 32: Antioxidative Kapazität nach Dosis bei Blutabnahme

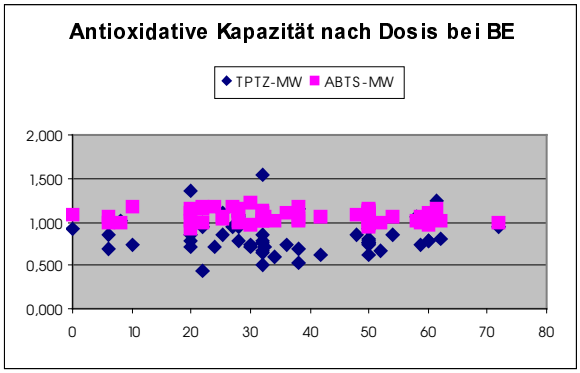


Abb. 33: Antioxidative Kapazität nach Tumorentität

Abb. 33a: Patientinnen mit Mamma-Ca

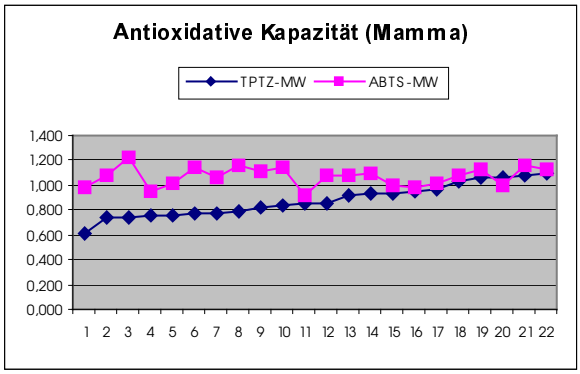
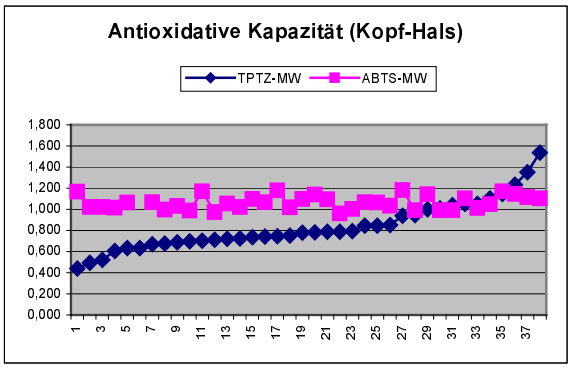


Abb 33b: Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren



1.3.4.8 Quenching

Die Zahl der Zellen im zweiten Teilungszyklus ist nicht abhängig von der Dosis bei Blutabnahme und sinkt mit steigender Dosis der in-vitro Bestrahlung. Ein Unterschied zwischen Patienten mit Kopf-Hals-Bestrahlung und Mamma-Bestrahlung findet sich nicht.

Abb. 34: Zellen im 2. Teilungszyklus

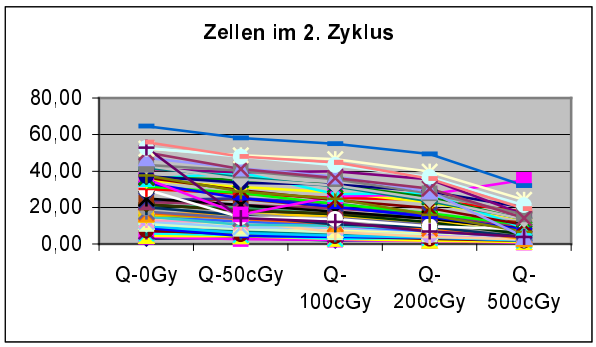


Abb. 35: Zellen im 2. Teilungszyklus nach Dosis bei Blutabnahme

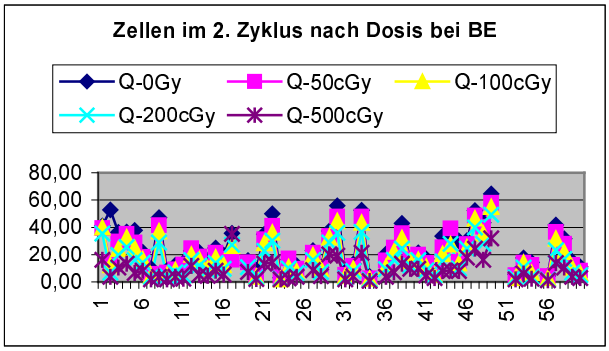


Abb. 36: Zellen im 2. Teilungszyklus nach Tumorentität

Abb. 36a: Patientinnen mit Mamma-Ca

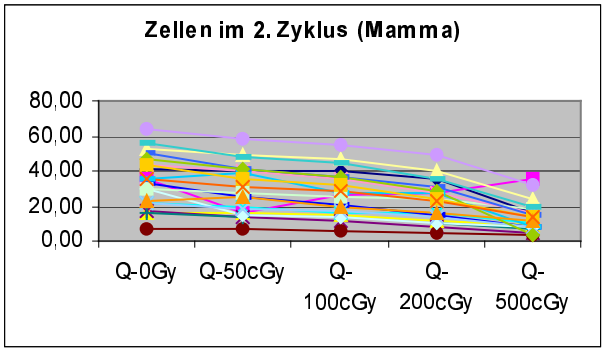
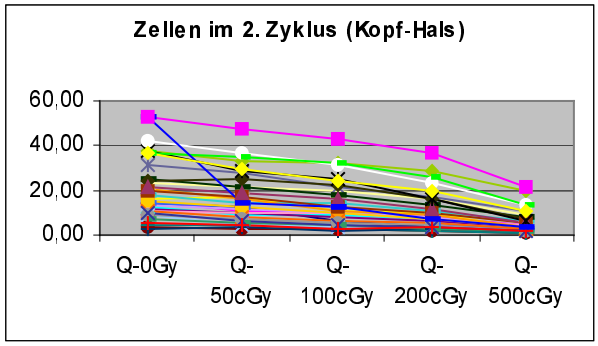


Abb 36b: Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren



Der Dosiseffekt wird nur wenig deutlicher, wenn man die Werte für die Kontrolle abzieht (Kontrolle= Probe in gleicher Weise prozessiert, aber nicht bestrahlt). Auch hier findet sich kein Unterschied zwischen den Entitäten.

Abb. 37: Zellen im 2. Teilungszyklus nach Tumorentität

Abb. 37a: Patientinnen mit Mamma-Ca

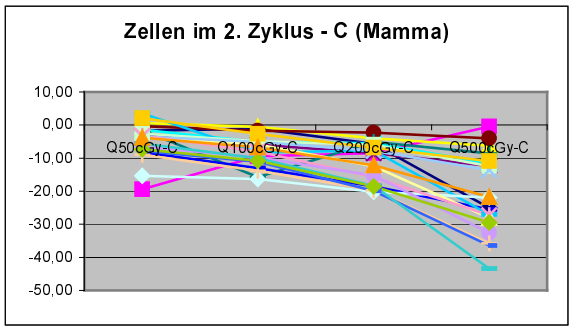
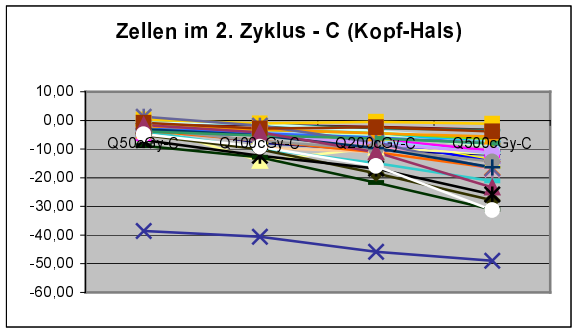


Abb 37b: Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren



1.3.4.9 Apoptose

Auch die Apoptose wurde nach Inkubation der Zellen und Bestrahlung mit verschiedenen Dosen in vitro bestimmt, die 0-Gy Probe diente als Kontrolle. Die Darstellung in Dosis-Effekt-Kurven zeigt eine Zunahme der Apoptoserate abhängig von der Dosis der in vitro Bestrahlung. Mit steigender Dosis bei Blutabnahme zeigt sich kein einheitliches Bild, es scheint hier ohne Relevanz zu sein, wann das Blut abgenommen wurde.

Abb. 38: Apoptose (Dosiseffektkurve)

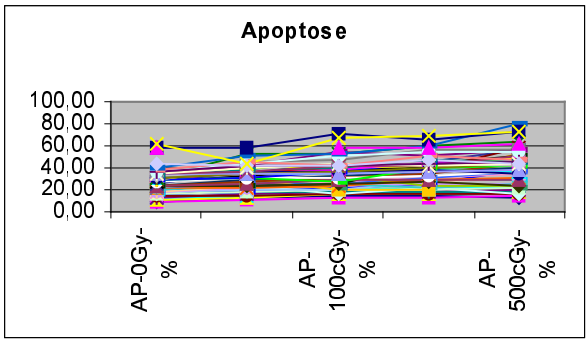
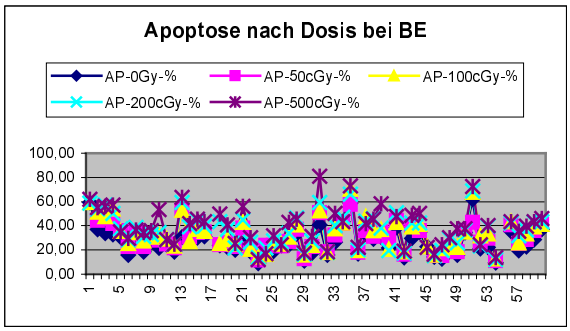


Abb. 39: Apoptose nach Dosis bei Blutabnahme



Wesentliche Unterschiede zwischen den Diagnosegruppen finden sich nicht; zieht man die Kontrolle von den einzelnen Werten ab, so zeigt sich der Dosiseffekt (die Zunahme der Apoptoserate mit steigender in-vitro-Dosis) noch etwas deutlicher.

Abb. 40: Apoptose (Dosiseffektkurve) nach Tumorentität

Abb. 40a: Patientinnen mit Mamma-Ca

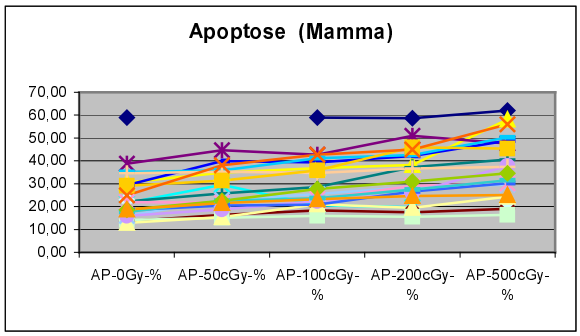


Abb. 40b: Patienten mit Kopf-Hals-Tumor

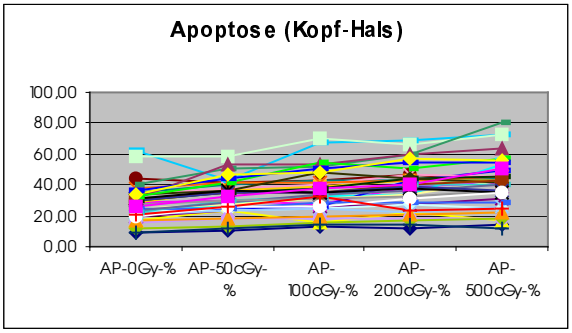


Abb. 41: Apoptose (Dosiseffektkurve) nach Tumorentität; der Wert der Kontrolle (0Gy) wurde jeweils vom Wert bei Bestrahlung mit einer definierten Dosis abgezogen

Abb. 41a: Patientinnen mit Mamma-Ca

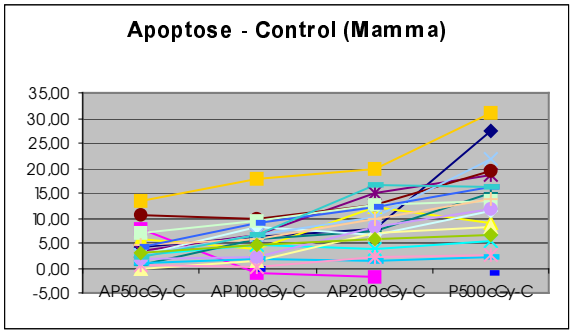
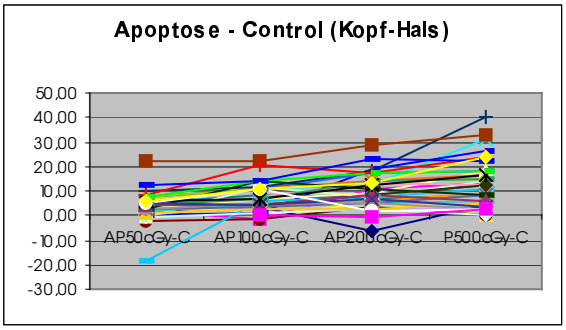


Abb. 41b: Patienten mit Kopf-Hals-Tumor



1.3.4.10 MN vor Radiotherapie (Subgruppe)

Bei einigen der 60 Patienten wurde bereits vor Beginn der Teilkörperbestrahlung eine Blutprobe entnommen und auf die Spontanrate der Mikronuklei untersucht. Es zeigt sich eine deutliche Streuung und kein Unterschied zwischen den beiden Tumorentitäten.

Abb. 42: Mikronuklei vor Beginn der Teilkörperbestrahlung

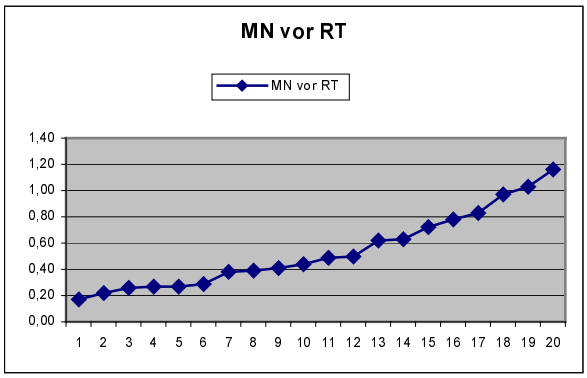
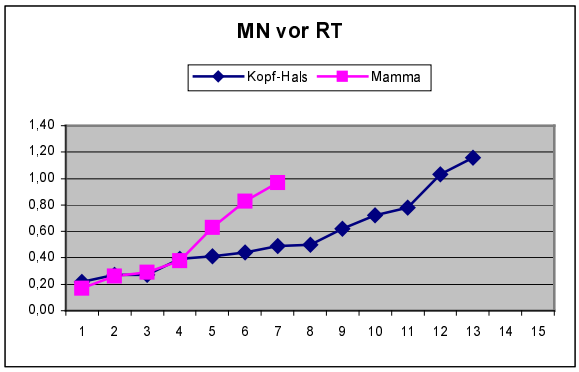


Abb. 43: Mikronuklei vor Beginn der Bestrahlung nach Tumorentität



1.3.4.11 Zusammenfassung

Viele Einzelwerte beschreiben das Verhalten der Zellen unter in-vitro Bestrahlung nach Teilkörperdosis. Keiner der Werte zeigt systematisch eine Zunahme der Defekte mit steigender Teilkörperdosis. Bei in-vitro Bestrahlung finden sich die erwarteten Dosis-Effekt Kurven. Die Unterschiede zwischen Kopf-Hals-Bestrahlung und Mamma-Ca sind am ehesten durch die unterschiedliche Patientenzahl bedingt.

1.3.5 Einfluss klinischer Parameter auf die Ausprägung biologischer Messwerte

Hierbei wurde in der gesamten Gruppe von 60 Patienten untersucht, ob unabhängig von individueller Empfindlichkeit oder Dosis bei Blutabnahme ein Einfluss klinischer Parameter auf die Ausprägung der in-vitro-Daten besteht.

Alle statistischen Analysen in diesem Unterkapitel wurden mittels Kruskal-Wallis-Test durchgeführt, soweit es nicht anders genannt wird. Die Verteilung der Faktoren im Kollektiv (also wie viele Patienten hatten diesen Einflussfaktor positiv) ist der Auflistung unter 1.3.2 zu entnehmen. Ein Problem ist die Vielzahl der Tests. Auch hier handelt es sich um eine explorative Analyse in einem Kollektiv von nur 60 Patienten. Die Ergebnisse müssen anhand der Zusammenhänge innerhalb des Projekts, den im eigenen Labor erhobenen Normwerten und den Erfahrungen aus der Literatur bewertet werden. Wir haben bei 29 biologischen Endpunkten insgesamt 19 Einflussfaktoren untersucht, bei einer Fehlerwahrscheinlichkeit von 5 % muss man mit ca. 27 falsch positiven Signifikanztests rechnen. Somit können diese Tests nur Hinweise auf mögliche Zusammenhänge geben.

Einige der untersuchten klinischen Einflussfaktoren beeinflussen keinen der biologischen Parameter. Diese sind hier aufgezählt:

- BMI (gruppiert nach Einzelgruppen als auch zusammengefasst in drei Gruppen nach Untergewicht, Normalgewicht bis leichtes Übergewicht, extremes Übergewicht, getestet mit Kruskal-Wallis)
- Resektionsstatus (R0, R1, R2, nur PE, getestet mittels Kruskal-Wallis-Test)
- Hämoglobin (kleiner gleich 11 mg/dl vs. größer 11 mg/dl)
- Einnahme eines Antibiotikums in den 14 Tagen vor Beginn der RT (ja vs. nein)
- Einnahme von Wachstumsfaktoren im Rahmen einer vorhergehenden Chemotherapie (j/n)

- Allgemeinkrankheiten (COPD, Diabetes, Blutkrankheiten, Autoimmunkrankheiten; erhöhte Leberwerte, erhöhte Nierenwerte)
- Einnahme von Medikamenten (NSAID, Gerinnungshemmer)

Ob die Bestrahlungsenergie einen Einfluss auf die Ausprägung der biologischen Endpunkte hat, wurde hier nicht untersucht; da sich in dem Kollektiv von 60 Patienten verschiedene Mischungsverhältnisse von Telekobalttherapiegerät mit 6 und 15 MV Photonen finden, waren hier die Zahlen für einen sinnvollen Test nicht ausreichend.

1.3.5.1 Dizentrische Chromosomen

Die Zahl dizentrischer Chromosomen variiert signifikant in Abhängigkeit von einer Chemotherapie. Patienten mit Chemotherapie haben *weniger* dizentrische Chromosomen (p=0,002) wenn man nur Chemotherapie ja vs. Chemotherapie nein testet; auch in der bestrahlten Probe findet sich diese Signifikanz (p=0,015). Dies gilt auch bei Untersuchung der einzelnen Möglichkeiten für Chemotherapie (nicht, simultan, sequentiell, beides) mittels Kruskal-Wallis-Test für die nicht-bestrahlte (p=0,003) und die bestrahlte Probe (p=0,028). Dieses Ergebnis überrascht; man würde erwarten, dass die zusätzliche Chemotherapie die Zellen schädigt und somit sowohl spontan als auch mit in-vitro Bestrahlung die Werte in anderer Richtung signifikant wären. Eine Erklärung lässt sich aus den Daten nicht ableiten; als Argument kann nur angeführt werden, dass die Durchführung der Chemotherapie keinesfalls einheitlich war und möglicherweise verschiedene Faktoren eine Rolle spielen, die in dieser groben Kategorisierung nicht ausreichend berücksichtigt sind.

Abb. 44: Dizentrische Chromosomen und Chemotherapie
(ja=Chemotherapie ja, nein=keine Chemotherapie)

Abb. 44a: vor in-vitro-Bestrahlung

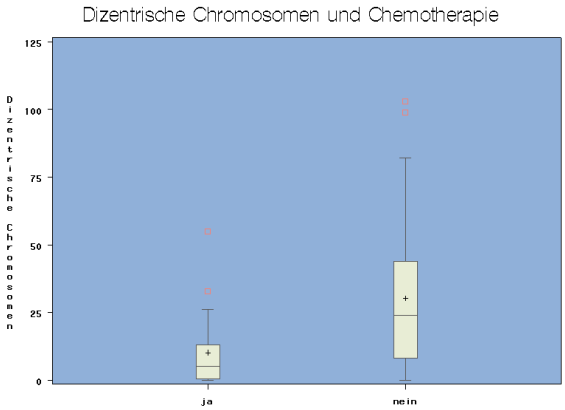


Abb. 44b: nach in-vitro-Bestrahlung

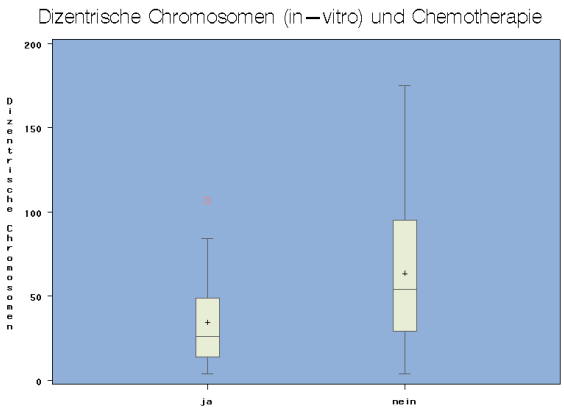
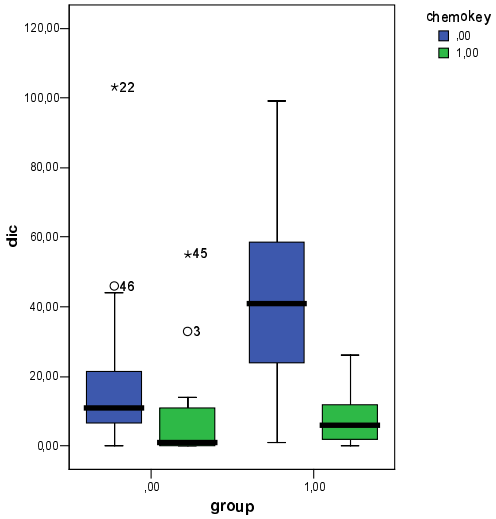
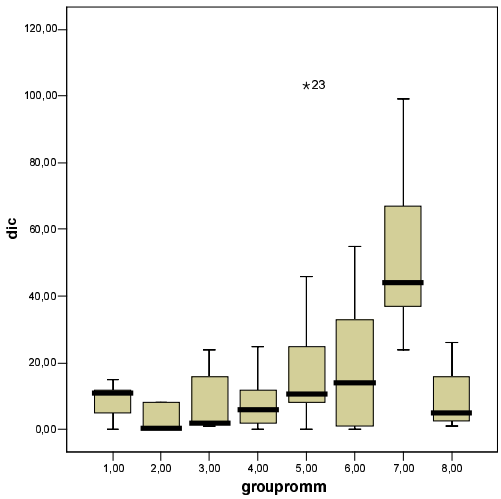


Abb. 45: Dizentrische Chromosomen empfindliche vs. unempfindliche Patienten

Abb. 45a: Boxplot; chemokey0=keine Chemo, chemokey1= mit Chemotherapie; group0=unempfindlich, group1: empfindlich)

Abb. 45b: Gruppen nach Diagnose, Chemotherapie und Empfindlichkeit (1=Mamma unempf ohne CT, 2=Mamma unempf mit, 3=Mamma empf ohne, 4=Mamma empf mit, 5=HNO unempf ohne, 6=HNO unempf mit, 7=HNO empf ohne, 8 HNO empf mit)





In Abb. 45a wird deutlich, dass ob mit oder ohne Chemotherapie immer die klinisch empfindlichen Patienten weniger Dizentrics haben als die unempfindlichen. Aufgeteilt nach Tumorentität und Chemotherapie in Abb. 45 b zeigt sich deutlich die Streubreite bei kleiner Fallzahl; Auffällig ist besonders, dass die empfindlichen Patienten mit Kopf-Hals Bestrahlung und ohne Chemotherapie hohe Werte haben, deutlich mehr als alle anderen Subgruppen.

In der Gruppe der Patientinnen mit Mamma-Ca findet sich ein signifikanter Unterschied abhängig vom Bestrahlungsvolumen: Patientinnen mit zusätzlicher Bestrahlung des Lymphabflusses hatten signifikant (Kruskal-Wallis) mehr Dizentrics als Patientinnen mit alleiniger Brustbestrahlung in der unbehandelten Probe (p=0,001) und in der bestrahlten Probe (p=0,006)

Abb. 46: Dizentrische bei Patientinnen mit Mamma-Ca abhängig vom Bestrahlungsvolumen (0= nur Bestrahlung von Restbrust/Thoraxwand; 1=mit Bestrahlung des regionalen Lymphabflusses)

Abb. 46a: Dizentrische im Frischblut (Dic)

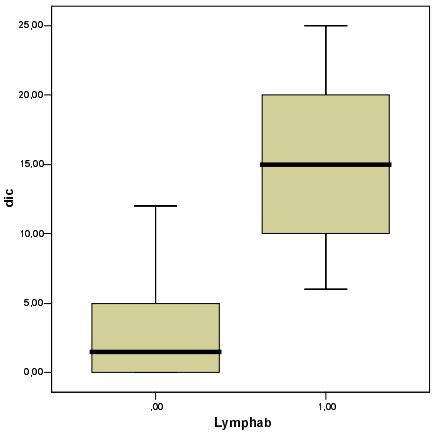
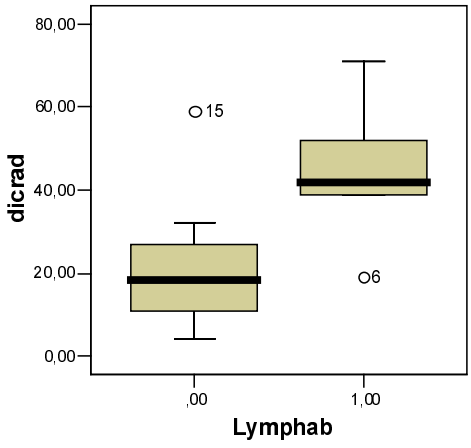


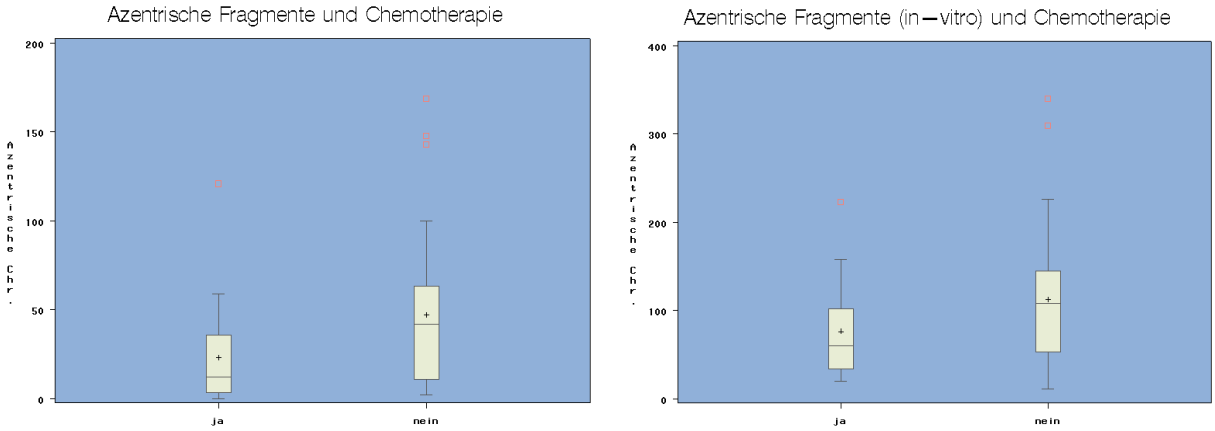
Abb. 46b: Dizentrische nach in-vitro-Bestrahlung (Dicrad)



1.3.5.2 Fragmente

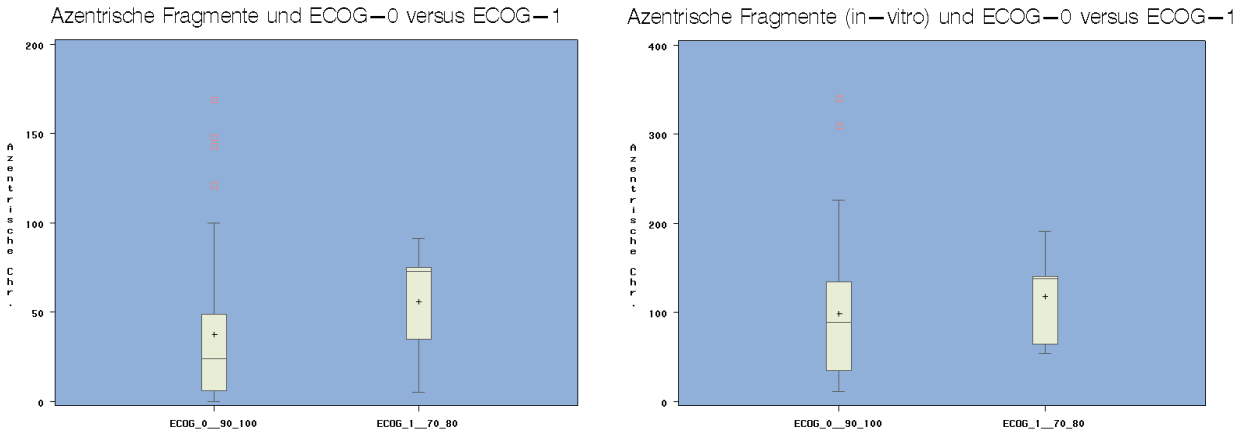
Patienten mit Chemotherapie haben weniger azentrische Chromosomen (p=0,016) wenn man nur Chemotherapie ja vs. Chemotherapie nein testet. Dies gilt auch bei Untersuchung der einzelnen Möglichkeiten für Chemotherapie (nicht, simultan, sequentiell, beides) mittels Kruskal-Wallis-Test (p=0,02).

Abb. 47: Azentrische Fragmente und Chemotherapie
(ja=Chemotherapie ja, nein=keine Chemotherapie)
Abb. 47a: vor in-vitro-Bestrahlung Abb. 47b: nach in-vitro-Bestrahlung



Patienten mit einem besseren Karnofsky (100 oder 90, ECOG 0) haben weniger azentrische Fragmente als Patienten mit einem reduzierten Allgemeinzustand (p=0,003). Dies bestätigt sich in der Untersuchung der Fragmente nach Bestrahlung der Blutprobe (p=0,014).

Abb. 48: Azentrische Fragmente und Allgemeinzustand
Abb. 48a: vor in-vitro-Bestrahlung Abb. 48b: nach in-vitro-Bestrahlung



Patientinnen mit Mamma-Ca und Bestrahlung des Lymphabflusses haben mehr Fragmente als die nur an der Brust bestrahlten Frauen in der unbestrahlten Probe (p=0,002) und in der bestrahlten Probe (p=0,007).

Abb. 49: Azentrische Fragmente vor (frag, 49a) und nach in-vitro-Bestrahlung (fragrad, 49b), getrennt nach Bestrahlungsvolumen bei Mamma-Ca-Patientinnen
(0=ohne, 1=mit Lymphabflussbestrahlung)

Abb. 49a

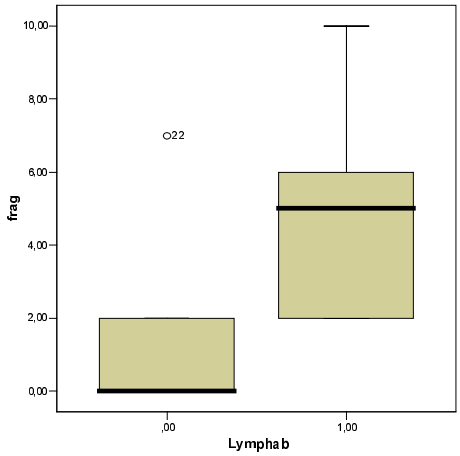
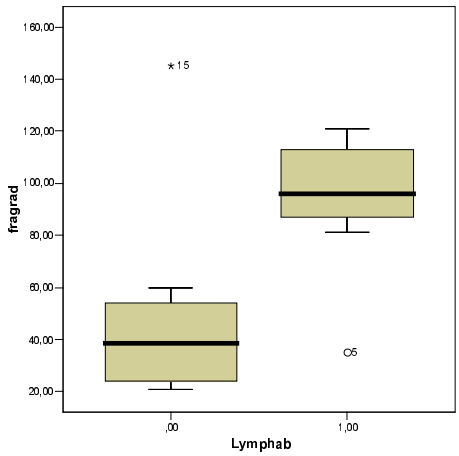


Abb. 49b



1.3.5.3 Translokationen

Patienten mit Chemotherapie haben *weniger* Translokationen (p=0,0034) wenn man nur Chemotherapie ja vs. Chemotherapie nein testet. Dies gilt auch bei Untersuchung der einzelnen Möglichkeiten für Chemotherapie (nicht, simultan, sequentiell, beides) mittels Kruskal-Wallis-Test (p=0,006). Nach Bestrahlung der Probe findet sich kein relevanter Einflussfaktor.

Abb. 50: Translokationen und Chemotherapie (ja=mit Chemoth, nein=ohne)

Abb. 50a: vor in-vitro-Bestrahlung

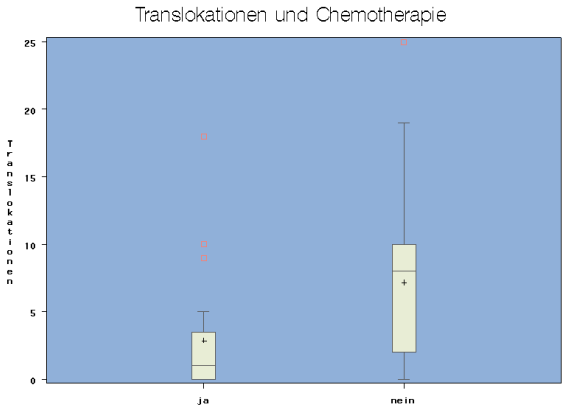
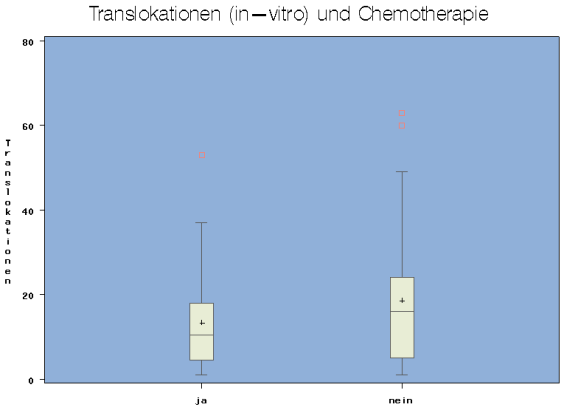


Abb. 50b: nach in-vitro-Bestrahlung



Die Rate der Translokationen ist größer bei den Patientinnen mit Mamma-Ca, die mit Lymphabfluss bestrahlt werden, allerdings nur in der frischen Probe (p=0,001) und nicht in der bestrahlten Probe (p=0,09).

Abb. 51: Translokationen vor (frag, 49a) und nach in-vitro-Bestrahlung (fragrad, 49b), getrennt nach Bestrahlungsvolumen bei Mamma-Ca-Patientinnen
(0=ohne, 1=mit Lymphabflussbestrahlung)

Abb. 51a

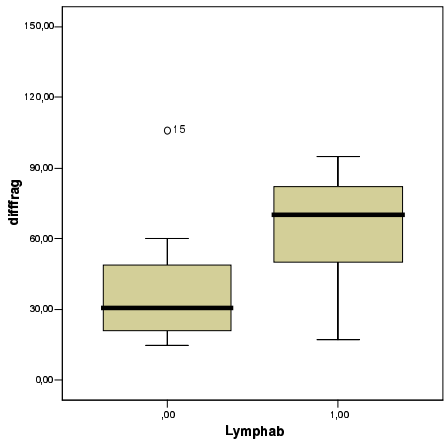
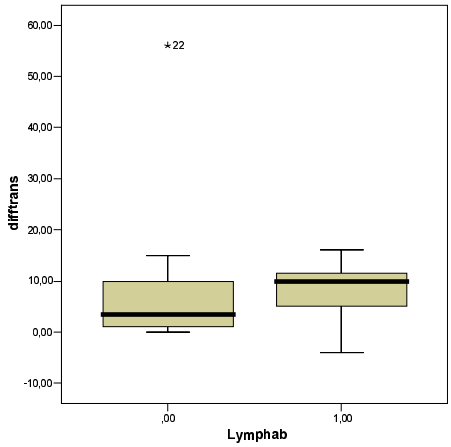


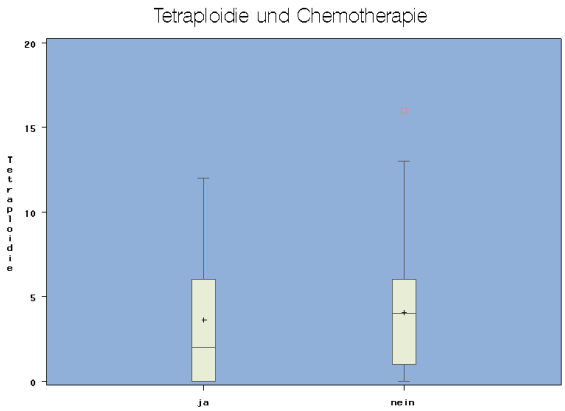
Abb. 51b



1.3.5.4 Tetraploide

Dieser Parameter wird weder in der unbestrahlten noch in der bestrahlten Probe von einem der untersuchten klinischen Einflussfaktor relevant verändert.

Abb. 52: Tetraploide und Chemotherapie (ja und nein, unbestrahlte Probe)



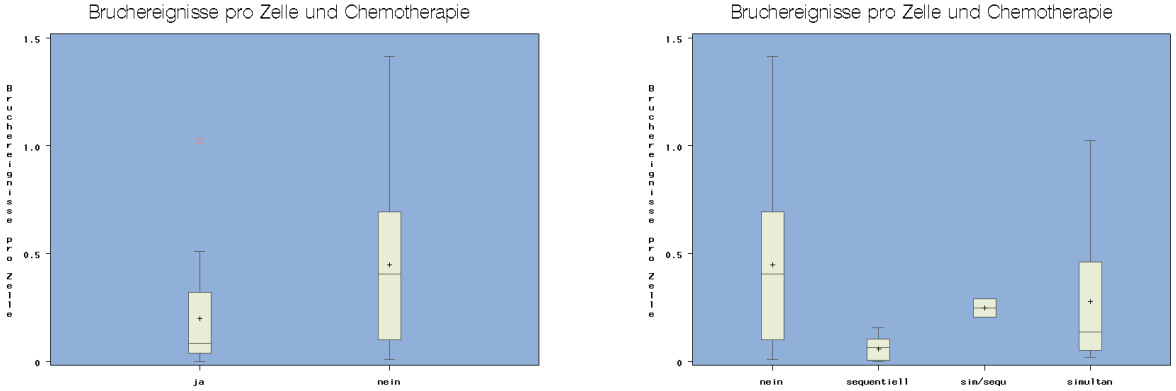
1.3.5.5 Summe aller Bruchereignisse und Bruchereignisse pro Zelle

Bei der Patientengruppe mit Chemotherapie finden sich signifikant *weniger* Bruchereignisse insgesamt (p=0,0056) und auch Bruchereignisse pro Zelle (p=0,0056), wenn man nur Chemotherapie ja vs. Chemotherapie nein testet; gleiches findet sich in der bestrahlten Probe sowohl für die Bruchereignisse(p=0,048) als auch für die Bruchereignisse pro Zelle (p=0,048). Dies gilt in der unbestrahlten Probe auch bei Untersuchung der einzelnen Möglichkeiten für Chemotherapie (nicht, simultan, sequentiell, beides) mittels Kruskal-Wallis-Test (p=0,009 für beide Parameter), nicht jedoch in der bestrahlten Probe.

Abb. 53: Bruchereignisse pro Zelle und Chemotherapie

Abb. 53a: nur ja vs. nein

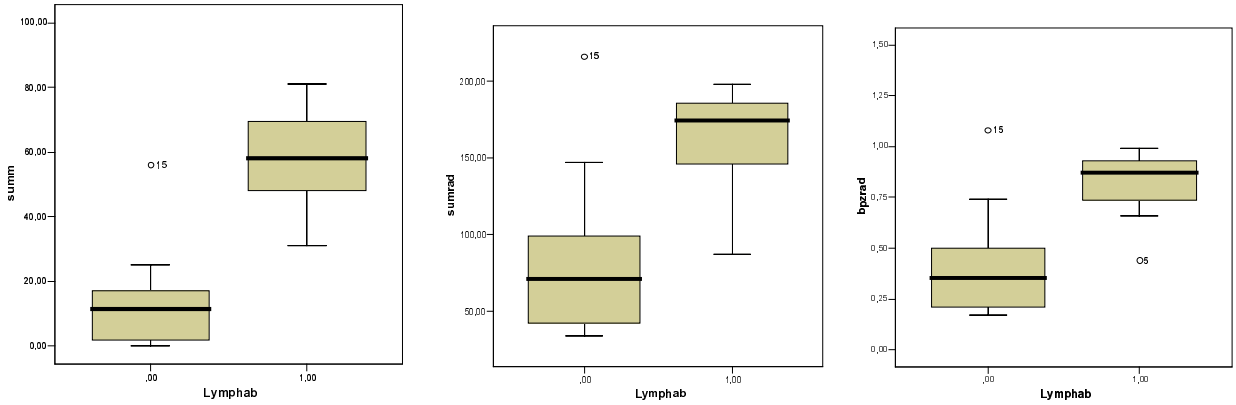
Abb. 53b: keine Chemo (nein) vs. sequentielle Chemo (sequ.), vs. simultan und sequentiell durchgeführte Chemo (simsequ), vs. allein simultan durchgef. (sim)



Betrachtet man nur die Patientinnen mit Mamma-Ca, so haben diejenigen mit Bestrahlung des Lymphabflusses mehr Bruchereignisse und somit auch mehr Bruchereignisse pro Zelle sowohl in der unbestrahlten Probe (p= 0,001 für beide) als auch in der bestrahlten Probe (p=0,006 beide).

Abb. 54: Summe aller Bruchereignisse vor (sum, 54a) und nach in-vitro-Bestrahlung (sumrad, 54b), sowie Brüche pro Zelle nach in-vitro-Bestrahlung (bpzrad, 54c) getrennt nach Bestrahlungsvolumen bei Mamma-Ca-Patientinnen (0=ohne, 1=mit Lymphabflussbestrahlung)

Abb. 54a Abb. 54b Abb. 54c

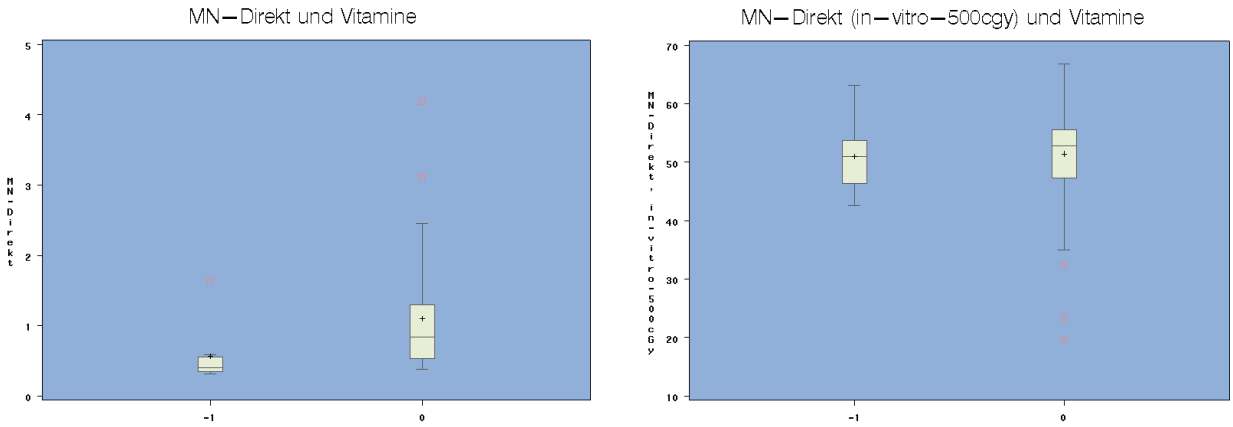


1.3.5.6 Mikronuklei

Die Rate der Mikronuklei in der Probe direkt nach Blutabnahme ist bei Patienten, die angeben, Vitamine, Elektrolyte oder Spurenelemente zusätzlich einzunehmen, signifikant (p=0,003) niedriger als bei den Patienten, die das nicht tun. In der Untersuchungsreihe nach Inkubation mit und ohne Bestrahlung setzt sich dies aber nicht fort, sodass eine genauere Beurteilung nicht möglich ist. Als Vergleichsmöglichkeit bleibt der MN direkt Wert, der bei 282 Patienten vor Beginn der Radiatio abgenommen wurde. In diesem großen Kollektiv findet sich kein signifikanter Einfluss der genannten Präparate auf den MN-direkt Wert. Da jedoch auch der Quenching-Wert signifikant von der Einnahme dieser Präparate beeinflusst wird, bleibt die abschließende Beurteilung offen.

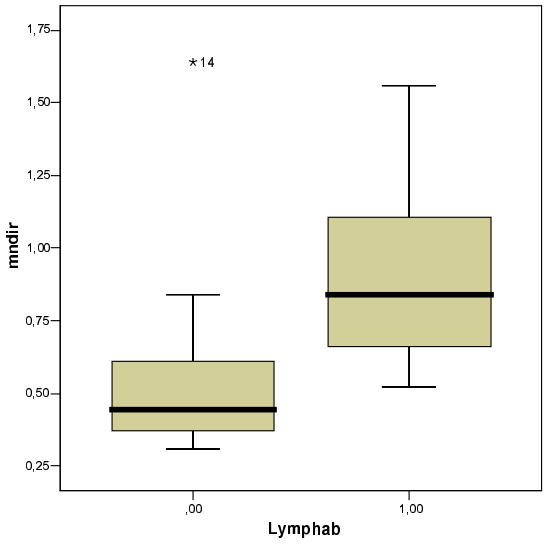
Abb. 55: Mikronuklei im Frischblut (Mndir, 55a) und nach in-vitro-Bestrahlung mit 5 Gy (55b) getrennt nach Einnahme von Vitaminen (-1=ja, 0=nein)

Abb. 55a Abb. 55b



Betrachtet man nur die Patientinnen mit Mamma-Ca, so haben diejenigen mit Bestrahlung des Lymphabflusses signifikant höhere Werte für MN direkt als die Patientinnen ohne (p=0,006).

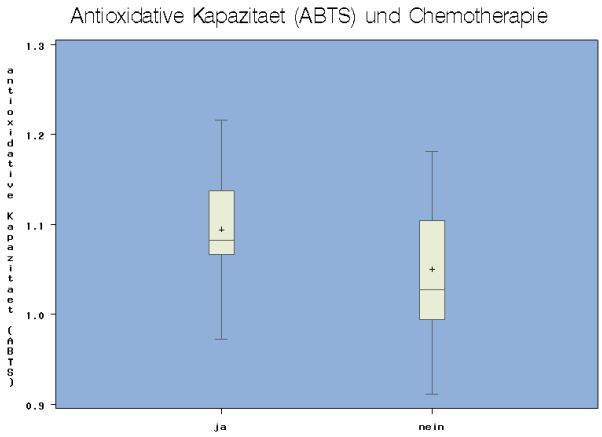
Abb. 56: MN direkt getrennt nach Bestrahlungsvolumen bei Mamma-Ca-Patientinnen (0=ohne, 1=mit Lymphabflussbestrahlung



1.3.5.7 Antioxidative Kapazität

Bei Messung der antioxidativen Kapazität mittels ABTS-Methode finden sich signifikant (p=0,029) niedrigere Werte für die Patienten ohne Chemotherapie, wenn man nur Chemotherapie ja vs. nein testet. Bei Messung mit der TPTZ-Methode findet sich diese Korrelation nicht. In unserem Kollektiv konnte die in anderen Gruppen gefundene Korrelation von Geschlecht und antioxidativer Kapazität nicht bestätigt werden, für keine der beiden Methoden.

Abb. 57: Antioxidative Kapazität und Chemotherapie (ja vs. nein)
Abb. 57a: ABTS Abb. 57b: TPTZ



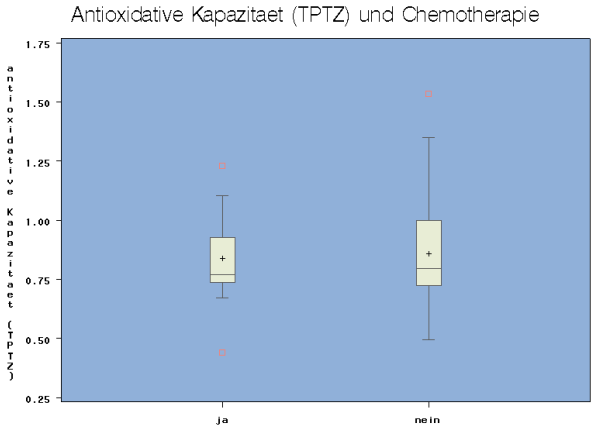
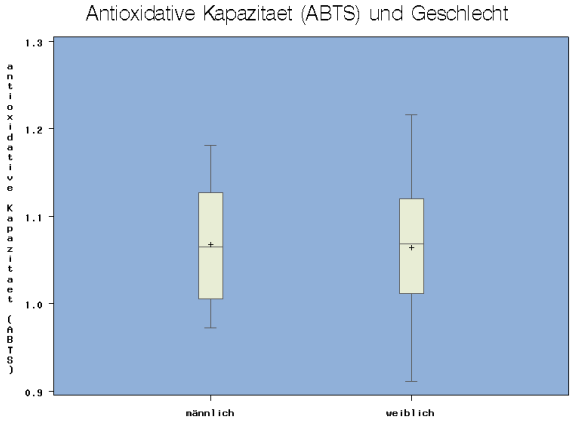
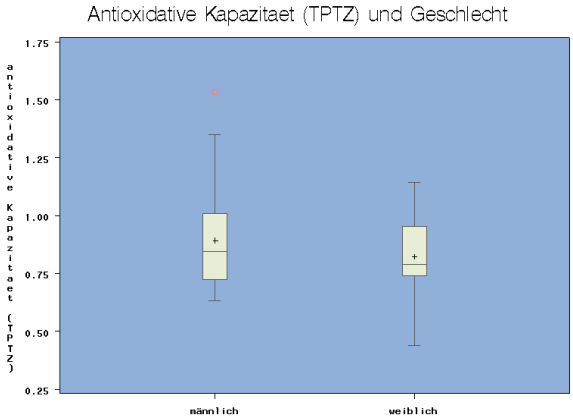


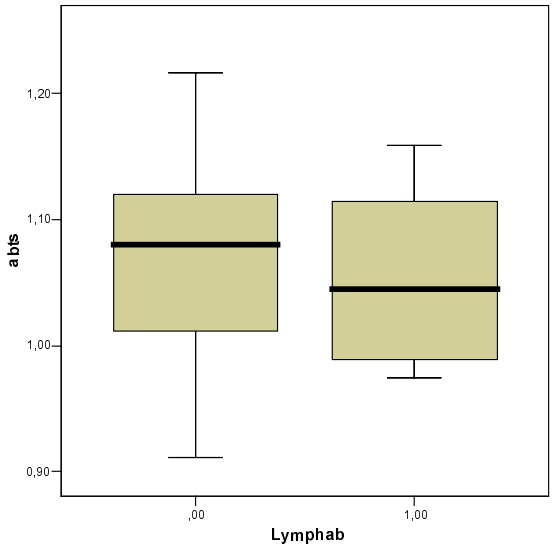
Abb. 58: Antioxidative Kapazität und Geschlecht
Abb. 58a: ABTS Abb. 58b: TPTZ

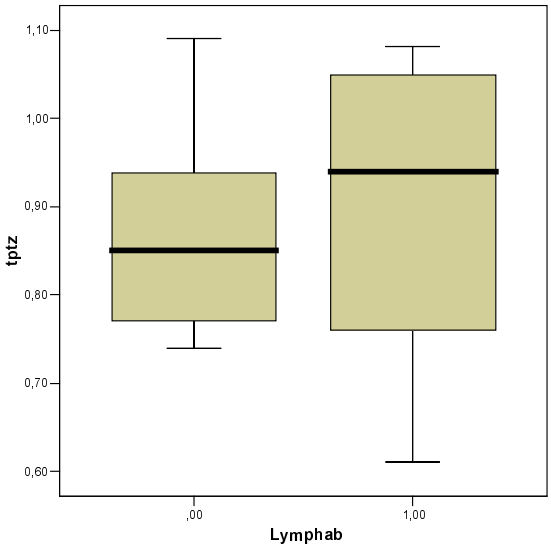




Die antioxidative Kapazität der Patientinnen mit Mamma-Ca wird nicht vom bestrahlten Volumen beeinflusst (p>0,5).

Abb. 59: Antioxidative Kapazität mit ABTS-Methode (59a) und mit TPTZ-Methode (59b), getrennt nach Bestrahlungsvolumen bei Mamma-Ca-Patientinnen
(0=ohne, 1=mit Lymphabflussbestrahlung)
Abb. 59a Abb. 59b





1.3.5.8 Quenching

Patienten ohne Chemotherapie haben signifikant weniger Zellen im zweiten Teilungszyklus, wenn man nur Chemotherapie ja vs. Chemotherapie nein testet. Dies gilt für alle untersuchten Dosisstufen: in der Kontrollprobe ohne zusätzliche Dosis (p=0,006) bei Bestrahlung der Probe mit 0,5 Gy (0,019), mit 1 Gy (p=0,013), mit 2 Gy (p=0,02) und auch bei Bestrahlung der Probe mit 5 Gy (p=0,005). Diese Signifikanz findet sich auch bei Untersuchung der einzelnen Möglichkeiten für Chemotherapie (nicht, simultan, sequentiell, beides) mittels Kruskal-Wallis-Test (p=0,013 für 0 Gy, p=0,022 für 0,5 Gy, p=0,016 für 1 Gy, p=0,022 für 2 Gy und p=0,006 für 5 Gy).

Abb. 60: Zellen im 2. Zyklus und Chemotherapie
Abb. 60a: im Vergleich ja vs. nein

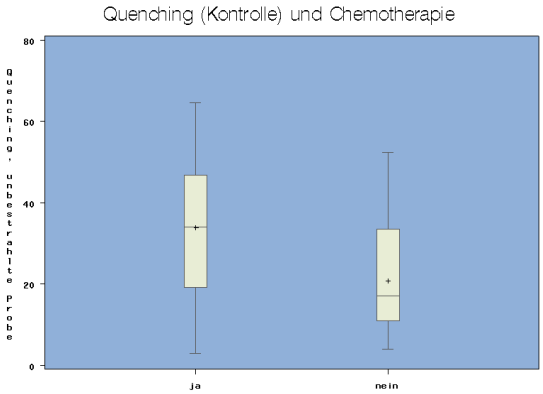
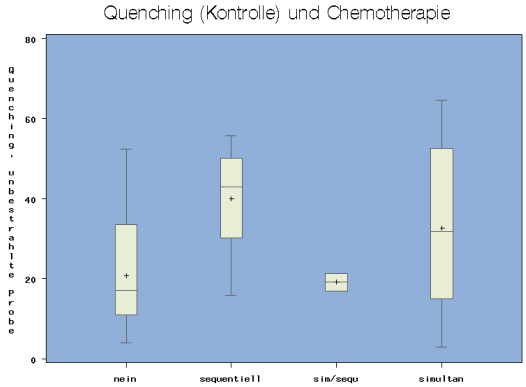


Abb. 60b: im Subgruppenvergleich (wie Abb. 53b)



Die Zahl der Zellen im zweiten Teilungszyklus ist bei Patienten, die angeben, Vitamine, Elektrolyte oder Spurenelemente zusätzlich einzunehmen, signifikant (p=0,04) höher als bei den Patienten, die das nicht tun. In der Untersuchungsserie mit Bestrahlung der Probe mit 0,5 Gy (p=0,018) mit 1 Gy (p=0,029) und mit 2 Gy (p=0,025) findet sich dieser Effekt wieder. In der mit 5 Gy bestrahlten Probe findet sich kein signifikanter Unterschied. Man muss demnach annehmen, dass der Wert im Quenching von der Einnahme dieser Präparate möglicherweise beeinflusst wird.

Abb. 61: Zellen im 2. Zyklus im Frischblut (61a) und nach in-vitro-Bestrahlung mit 2 Gy (61b) getrennt nach Einnahme von Vitaminen (-1=ja, 0=nein)
Abb. 61a

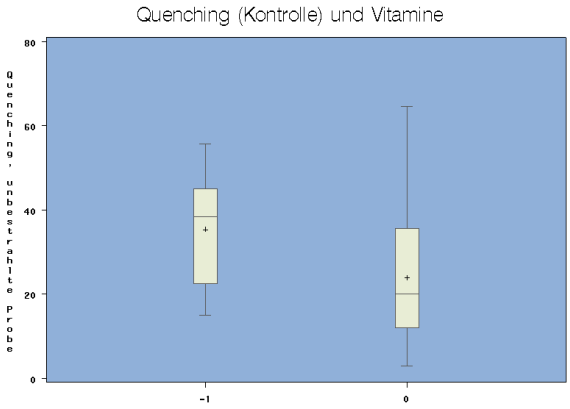
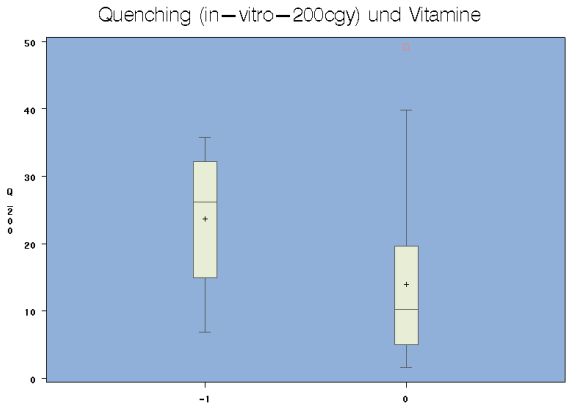


Abb. 61b



Der Wert für die Rate der Zellen im zweiten Teilungszyklus nach Bestrahlung der Probe mit 2 Gy ist signifikant (p=0,044) höher in der Gruppe der Patienten unter 60 Jahre. Da jedoch alle anderen Parameter dieser Reihe (also Quenching ohne Bestrahlung und mit Bestrahlung von 0,5 Gy, 1 Gy oder 5 Gy) nicht signifikant ist, ist ein relevanter Einfluss des Alters nicht wahrscheinlich.

In der Gruppe der männlichen Patienten finden sich signifikant niedrigere Werte für die Zellen im zweiten Teilungszyklus nach Bestrahlung mit 0,5 Gy (p=0,029), mit 1 Gy (p=0,016), mit 2 Gy (p=0,017) und mit 5 Gy (p=,019) als bei Patientinnen. Somit ist ein tatsächlicher Einfluss des Geschlechts auf die Zahl der Zellen im zweiten Teilungszyklus anzunehmen.

Abb. 62: Zellen im 2. Teilungszyklus getrennt nach Geschlecht im Frischblut (Abb. 62a) und nach Bestrahlung der Probe mit 2 Gy (Abb. 62b)

Abb. 62a

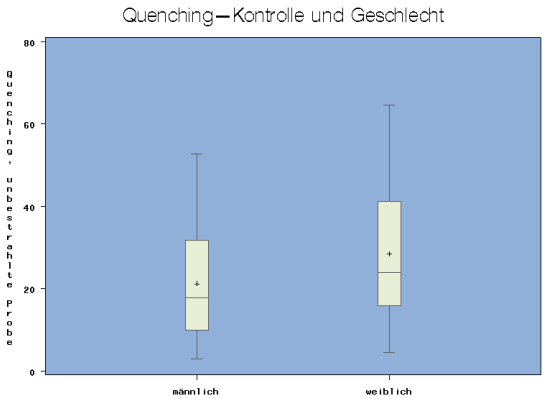
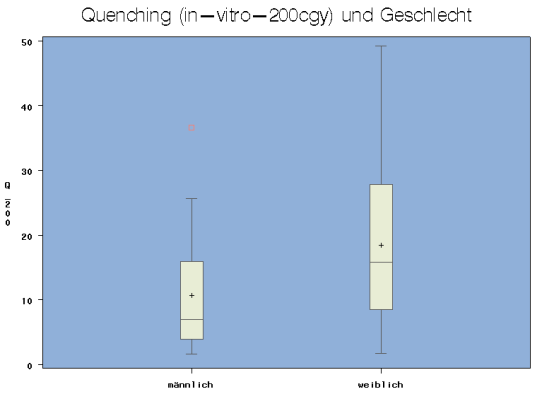


Abb. 62b



Alle Quenching-Werte für die verschiedenen Dosisstufen sind bei Testung des Allgemeinzustandes (ECOG 0 vs. ECOG 1) knapp nicht signifikant unterschiedlich (p-Werte von 0,061 bis 0,09). Alle Quenching-Werte sind bei Patientinnen mit Mamma-Ca und Bestrahlung des Lymphabflusses signifikant niedriger als bei Patientinnen alleiniger Bestrahlung der Brust.

Abb. 63: Zellen im 2. Zyklus vor (q0Gy, 63a) und nach in-vitro-Bestrahlung mit 2 Gy (q200cgy, 63b), getrennt nach Bestrahlungsvolumen bei Mamma-Ca-Patientinnen (0=ohne, 1=mit Lymphabfl.-bestrahlung)

Abb. 63a

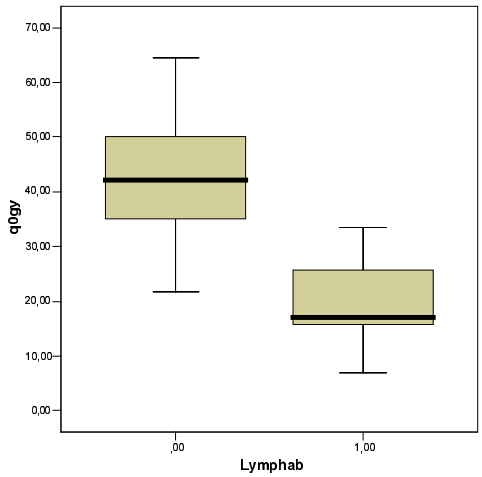
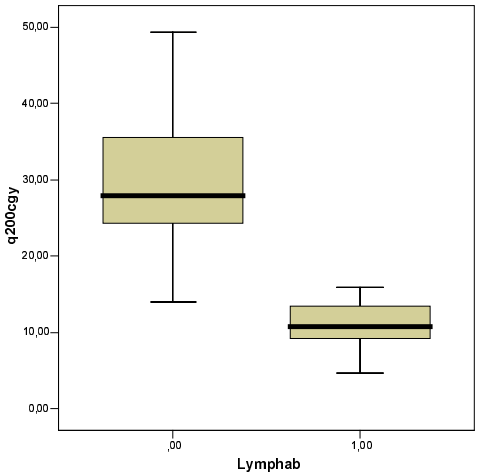


Abb. 63b



1.3.5.9 Apoptose

Dieser Parameter wird von keinem untersuchten klinischen Einflussfaktor relevant verändert.

Abb. 64: Apoptose im Frischblut getrennt nach Alter (bis 50 vs. >60)

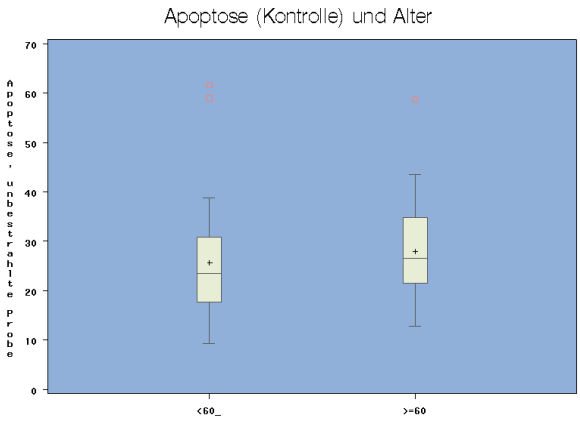
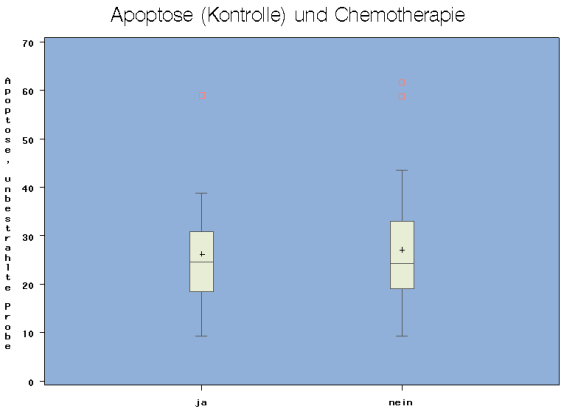


Abb. 65: Apoptose im Frischblut getrennt nach Chemotherapie (ja/nein)



Auch das Bestrahlungsvolumen bei Mamma-Ca-Patientinnen hat keinen Einfluss auf die Apoptoserate.

1.3.5.10 MN vor Radiotherapie (Subgruppe)

Diese Werte lagen von insgesamt 20 Patienten vor. 3 Patienten hatten eine Chemotherapie erhalten, hier lagen die Werte ohne Chemotherapie deutlich niedriger, eine Signifikanz kann jedoch aufgrund der kleinen Zahl nicht postuliert werden.

Abb. 66: Mikronuklei vor Radiotherapie in Abhängig von Alter (Gruppierung wie bei Abb. 65)

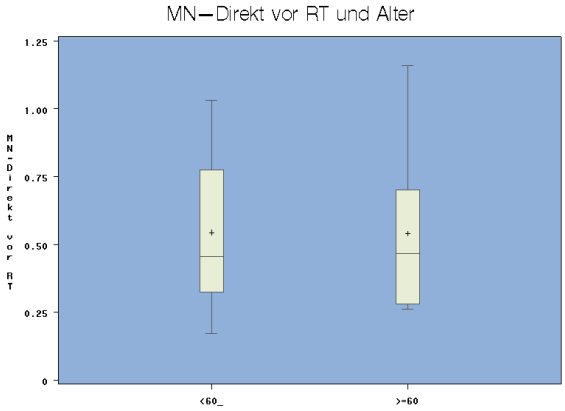
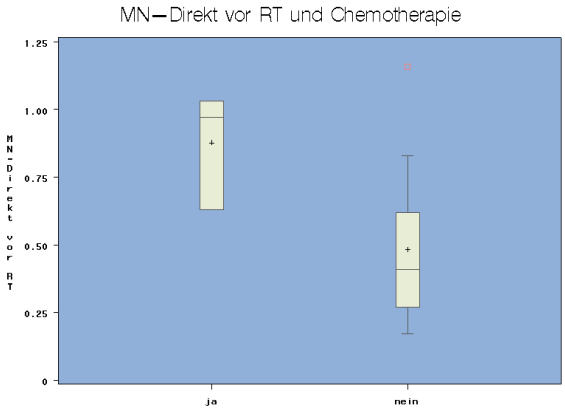


Abb. 67: Mikronuklei vor Radiotherapie



1.3.5.11 Zusammenfassung

Ein klinischer Faktor, der eine größere Zahl von Parametern wesentlich beeinflusst, ist die Chemotherapie. Da die Patienten bezüglich dieses Parameters gematcht wurden, kann ein Unterschied zwischen empfindlichen und gematchten Patienten nicht auf eine Ungleichverteilung der Chemotherapie in der Vorgeschichte beruhen. Auch bezüglich des Allgemeinzustands wurde gematcht, zwar nicht 1:1 bezogen auf den Karnofsky, aber doch innerhalb der ECOG-Gruppierung. Auch bezüglich des Geschlechts wurde gematcht und nur in einem Fall abgewichen.

Der zweite Parameter, der einen Teil der Ergebnisse signifikant beeinflusst, ist das Bestrahlungsvolumen bei Brustkrebspatientinnen. Bezüglich dieses Parameters wurde nicht gematcht; in der Gruppe der empfindlichen Patientinnen wurde der Lymphabfluss bei 6 (54%) der Patientinnen mit bestrahlt, in der Gruppe der unempfindlichen bei 2 (18%). Betrachtet man die Werteverteilung innerhalb der Gruppen, zeigt sich dieser Unterschied sowohl bei empfindlichen als auch bei unempfindlichen Patientinnen, beispielhaft gezeigt an den dizentrischen Chromosomen, den azentrischen Fragmenten und den Brüchen pro Zelle.

Abb. 68: Boxplots für den Einfluss der Lymphabflussbestrahlung auf versch. biolog. Endpunkte: group 0=unempfindlich, group1=empfindlich; x-Achsen-Beschriftung 0=keine Bestrahlung Lymphabfluss, 1=mit Bestrahlung Lymphabfluss

Abb. 68a: Dizentrics

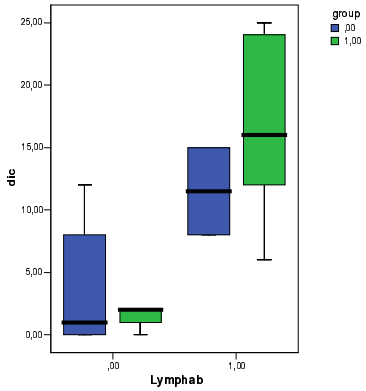


Abb. 68b: azentrische Fragmente

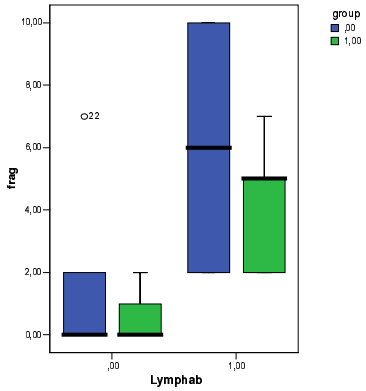
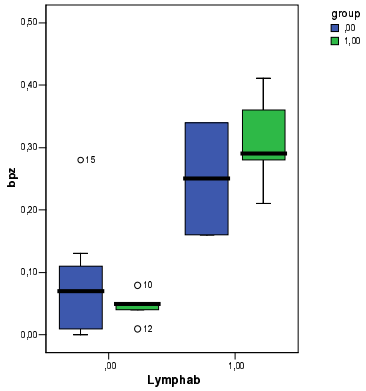


Abb. 68c: Brüche pro Zelle



Somit sind die Aussagen, die unter 1.3.5. jetzt folgen für den Unterschied zwischen Empfindlichen und Gematchten wirklich auf diese Eigenschaft zurückzuführen und nicht durch ein Ungleichgewicht vorstellbarer klinischer Faktoren bedingt.

1.3.6 Vergleich der untersuchten Parameter zwischen den empfindlichen Patienten und den gematchten unempfindlichen Patienten

Hier stehen zwei grundsätzlich verschiedene statistische Methoden zur Verfügung. Beim Mann-Whitney-U-Test werden die Stichproben als unabhängige Stichproben behandelt. Das matching wird zwar als ein Verfahren interpretiert, um möglichst gleichartige Gruppen zu erhalten, man geht jedoch davon aus, dass die Paare nicht gänzlich identisch bzw. miteinander verbunden sind. Daher spielt es bei der Analyse keine Rolle mehr, wie die Paare einander zugeordnet wurden, der Vergleich erfolgt zwischen den Gruppen. Beim Wilcoxon-Test werden die Gruppen als abhängig interpretiert. Es werden die Differenzen der beiden Werte eines Paares gebildet, diese Differenzen werden auf Null gesetzt. Das Ergebnis des Tests hängt daher sehr stark von der tatsächlichen Paarbildung ab. Da es sich beim matching in unserer Stichprobe um eine Methode mit dem Ziel der Bildung möglichst identischer Gruppen handelt, wurde von uns die erste Methode favorisiert.

Beim Mann-Whitney-U-Test Test werden die Werte der einen Gruppe (Empfindliche) denen der anderen Gruppe (Gematchte) gegenübergestellt. Durch einen Vergleich der Verteilung der Werte (Mittelwert, Median, Standardabweichung) wird geprüft, ob der Unterschied der Verteilung eher zufällig ist oder eher auf einem echten Unterschied zwischen den Gruppen beruht. Liegt der p-Wert unterhalb von 0,05 wird mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% davon ausgegangen, dass die Gruppen wirklich unterschiedlich sind.

Keine Signifikanz findet sich für die Zahl der Fragmente, der Translokationen, der Tetraploiden, der Summe aller Bruchereignisse und der Rate von Bruchereignissen pro Zelle nach in vitro-Bestrahlung. Auch für die übrigen strahlenbiologischen Untersuchungen findet sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (ABTS, TPTZ, Quenching alle Gruppen und Apoptose alle Gruppen).

Zusätzlich zu dieser qualitativ am höchsten einzuschätzenden Teststatistik werden einige mehr plakative Vergleiche und Subgruppenanalysen gezeigt und kommentiert. Diese dienen dem mehr explorativen Verständnis der Daten. Wie bereits unter 1.3.2 ausgeführt diente für die paarweise Analyse die prospektive Zuordnung von E und M in ein Paar nach der Dosis bei Blutabnahme als Grundlage. Die Gruppenanalyse ignoriert diesen Parameter, weil ja nachgewiesenermaßen in beiden Gruppen (E und M) jeweils die gleiche Zahl von Patienten mit einer bestimmten Dosis bei Blutabnahme eingeschlossen wurde. Weitere Subgruppenanalyse (HNO mit Chemotherapie empfindlich vs. ohne Chemotherapie empfindlich vs. mit Chemotherapie unempfindlich vs. ohne Chemotherapie unempfindlich) verteilt dann wieder die Dosis bei Einschluss unterschiedlich, da die Zahlen in jeder Gruppe sehr klein sind. Diese Analysen sind also nur eingeschränkt möglich.

1.3.6.1 Dizentrische Chromosomen

Für den Paarvergleich der dizentrischen Chromosomen zeigt sich sowohl bei Kopf-Hals-Patienten als auch bei Patientinnen mit Mamma-Ca, dass in der überwiegenden Zahl der Paare der Wert für den empfindlichen Partner höher liegt als für den gematchten normal reagierenden Partner. Allerdings finden sich auch einzelne Paare, bei denen der Unterschied andersherum ist. Die paarweise Darstellung der folgenden Diagramme verdeutlicht dies optisch für die Werte der unbestrahlten Probe; danach für die bestrahlten Probe und zuletzt für die Differenz der beiden Werte (bestrahlte minus unbestrahlte Probe).

Abb. 69: Dizentrics nach Tumorlokalisation, dargestellt für jedes gematchte Paar; Dic-U=unempfindlicher Partner, DicE=empfindlicher Partner

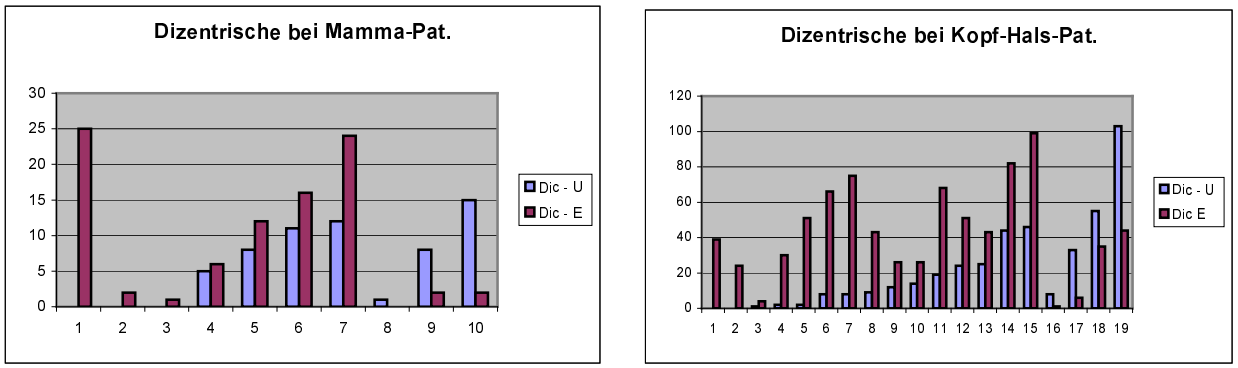


Abb. 70: Dizentrics (nach Bestrahlung in vitro) nach Tumorlokalisation, dargestellt für jedes gematchte Paar; Dicrad-U=unempfindlicher Partner, DicradE=empfindlicher Partner

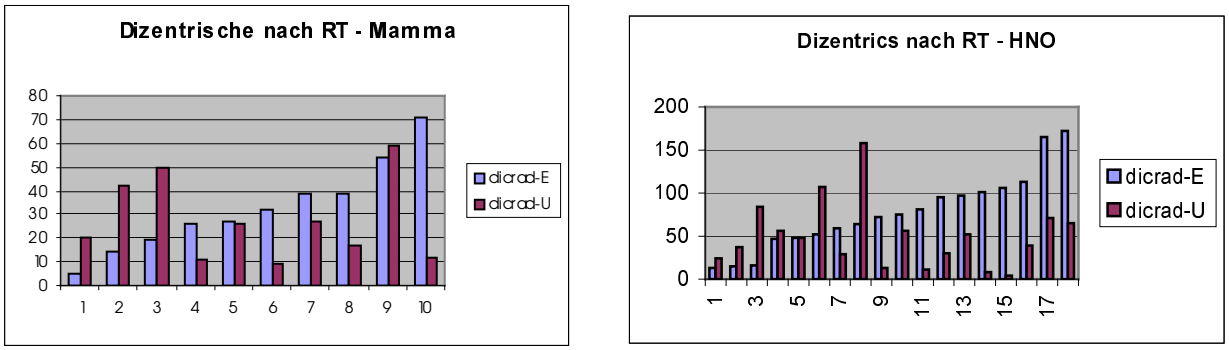
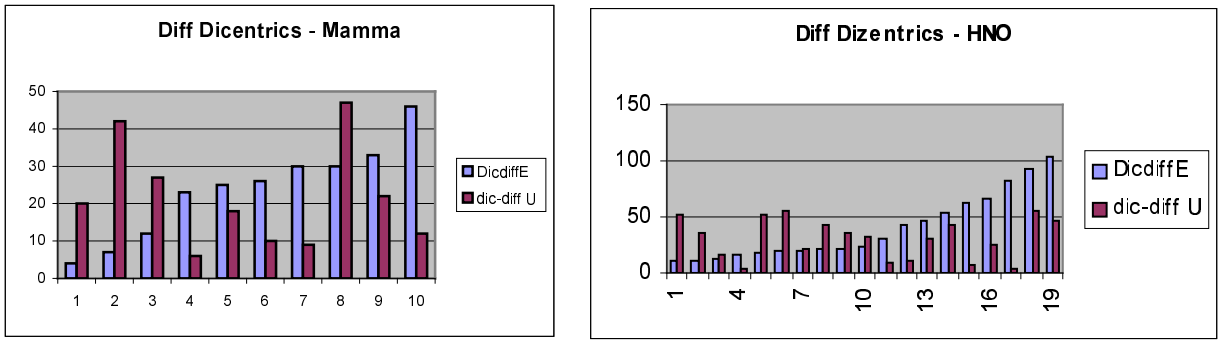


Abb. 71: Differenz der Dizentrics mit in-vitro-RT abzüglich der Spontanrate ohne in-vitro-RT; getrennt nach Tumorlokalisation, dargestellt für jedes gematchte Paar; DicdiffU=unempfindlicher Partner, DicdiffE=empfindlicher Partner



Bei Durchführung der Teststatistik des Gruppenvergleichs zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen empfindlich und unempfindlich. Dies gilt sowohl für die bestrahlte (p=0,04) als auch für die unbestrahlte (p=0,019)Probe.

Abb. 72: Dizentrische Chromosomen ohne (72a) und mit (72b) in vitro Bestrahlung

Abb. 72a

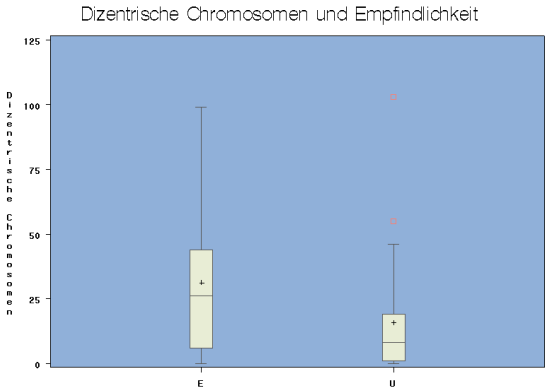
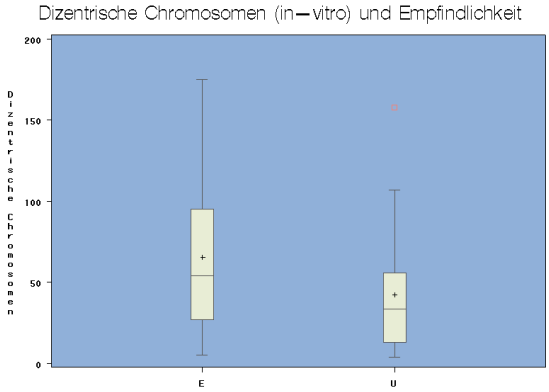


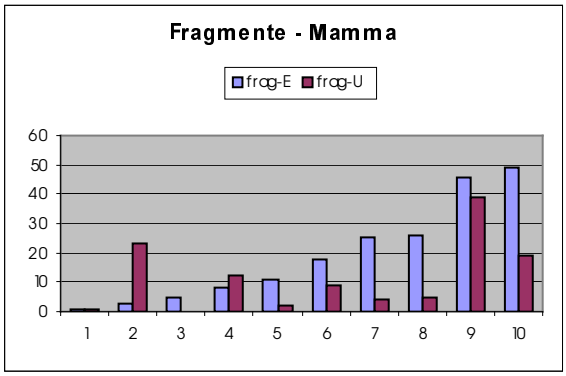
Abb. 72b



1.3.6.2 Fragmente

Für den Paarvergleich der azentrischen Fragmente zeigt sich (wie schon bei den Dizentrics) sowohl bei Kopf-Hals-Patienten als auch bei Mamma-Patientinnen, dass in der überwiegenden Zahl der Paare der Wert für den empfindlichen Partner höher liegt als für den gematchten normal reagierenden Partner.

Abb. 73: Fragmente nach Tumorlokalisation, dargestellt für jedes gematchte Paar; Frag-U=unempfindlicher Partner, FragE=empfindlicher Partner



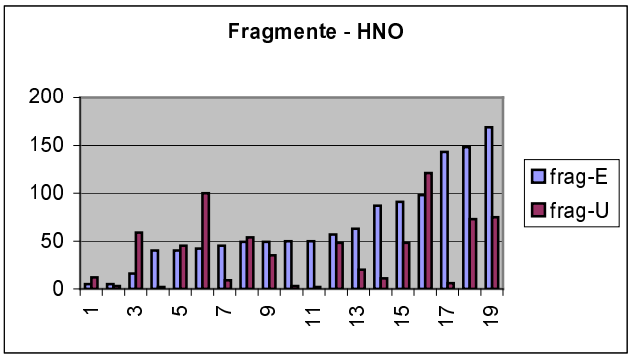
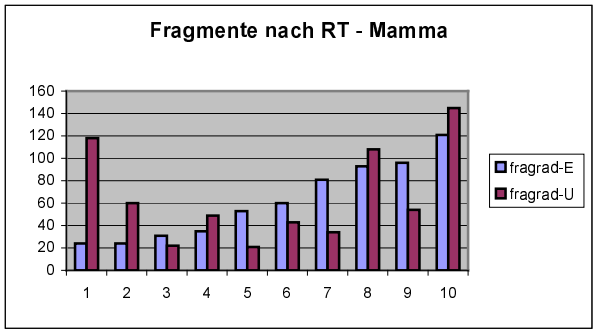


Abb. 74: Fragmente (nach Bestrahlung in vitro) nach Tumorlokalisation, dargestellt für jedes gematchte Paar; Fragrad-U=unempfindlicher Partner, FragradE=empfindlicher Partner



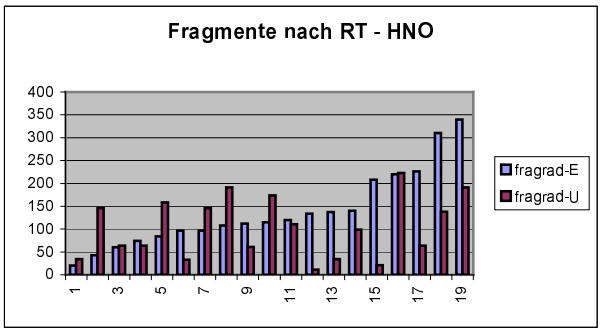
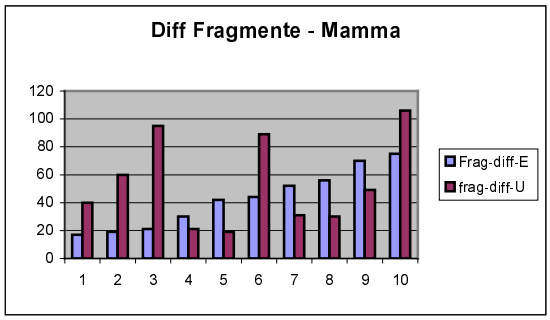
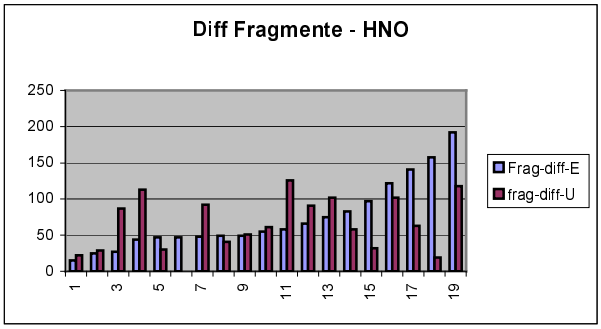


Abb. 75: Differenz der Fragmente mit in-vitro-RT abzüglich der Spontanrate ohne in-vitro-Bestrahlung; getrennt nach Tumorlokalisation, dargestellt für jedes gematchte Paar; FragdiffU=unempfindlicher Partner, FragdiffE=empfindlicher Partner





Bei Durchführung der Teststatistik des Gruppenvergleichs zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen empfindlich und unempfindlich. Dies gilt allerdings nur für die unbestrahlte Probe (p=0,04), bei der bestrahlten Probe ist die Differenz nicht signifikant.

Abb. 76: Azentrische Fragmente ohne (Abb. 76a) und mit (Abb. 76b) in vitro-Bestrahlung im Vergleich E (empfindliche) vs. U (unempfindliche) Patienten.

Abb. 76a

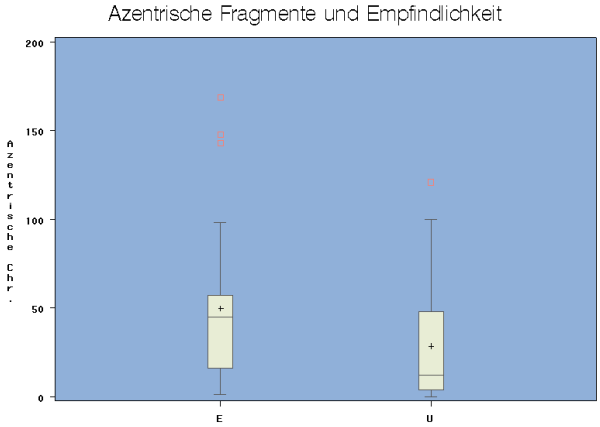
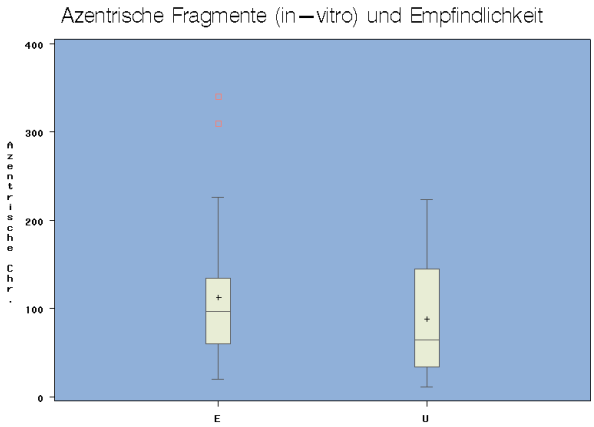


Abb. 76b



1.3.6.3 Translokationen

Trägt man die Zahl der spontan beobachteten Translokationen im Paarvergleich auf so zeigt sich für beide Patienten-Subgruppen eine höhere Inzidenz der Translokationen bei den empfindlichen Patienten. Dies gilt für die unbestrahlte (Abb. 77) und die bestrahlte (Abb. 78) Probe und ist für die Differenz pro Paar weniger deutlich (Abb. 79).

Abb. 77: Zahl der Translokationen im Paarvergleich der unbestrahlten Probe, getrennt nach Tumorentitäten (transE=empfindlicher Partner, transU=unempfindlicher Partner)

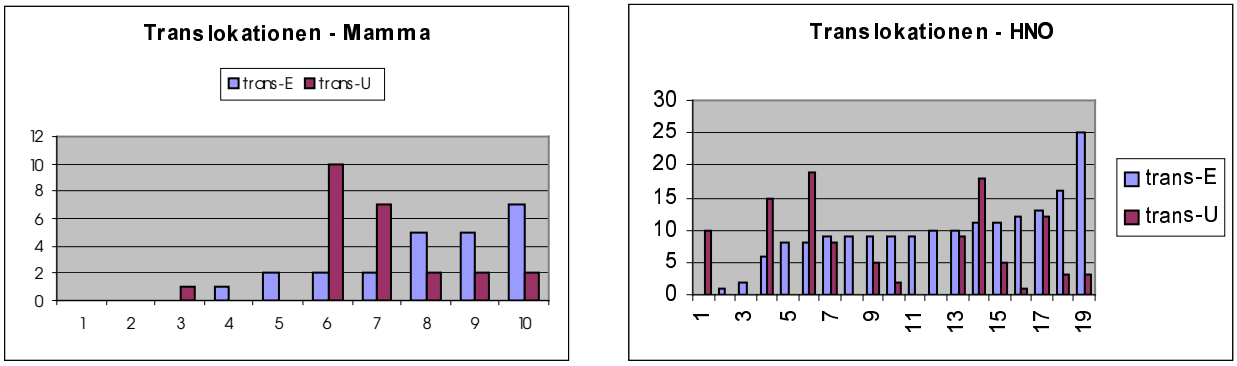


Abb. 78: Translokationen (nach Bestrahlung in vitro) nach Tumorlokalisation, dargestellt für jedes gematchte Paar; Transrad-U=unempfindlicher Partner, TransradE=empfindlicher Partner

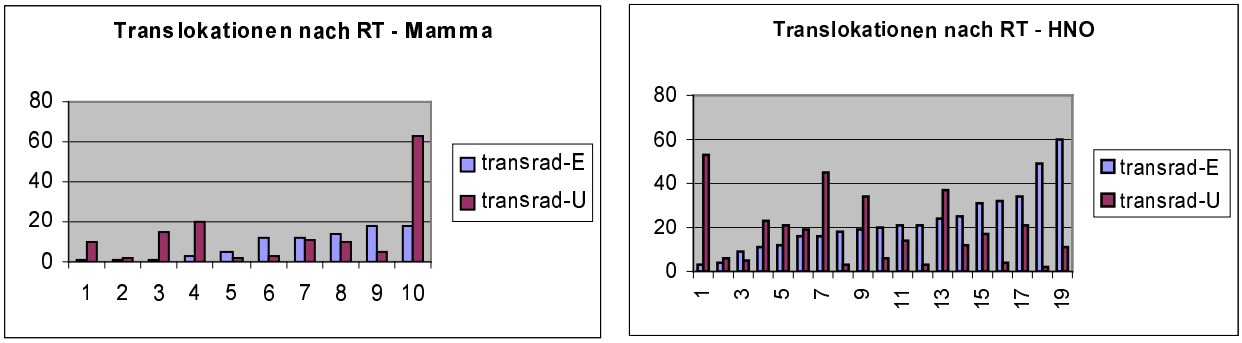
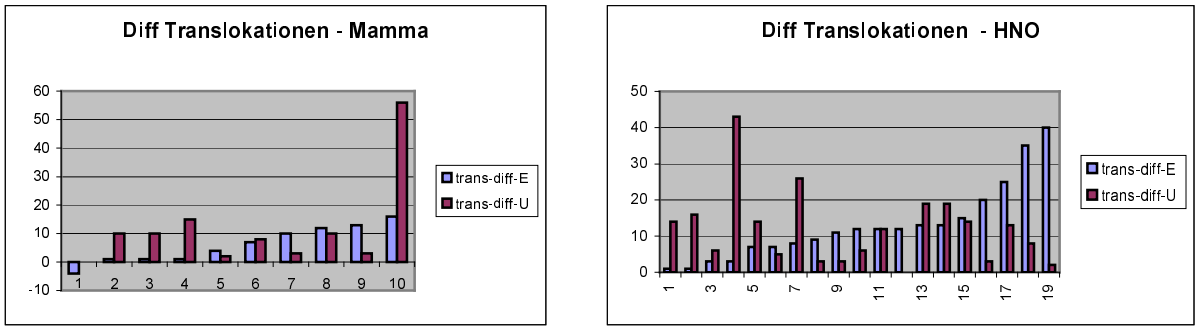


Abb. 79: Differenz der Translokationen mit in-vitro-RT abzüglich der Spontanrate ohne in-vitro-RT; getrennt nach Tumorlokalisation, dargestellt für jedes gematchte Paar; transdiffU=unempfindlicher Partner, transdiffE=empfindlicher Partner

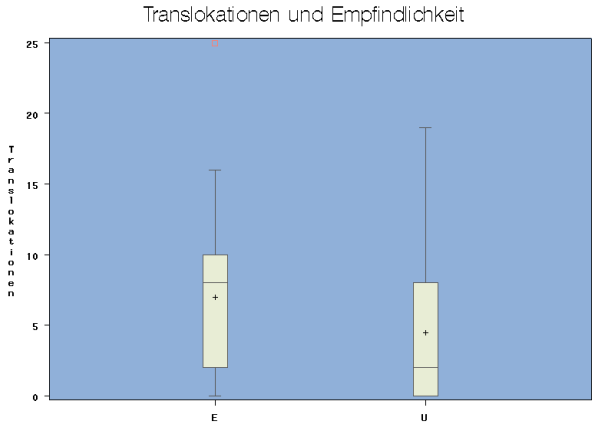


Im Gruppenvergleich ist der Unterschied in der Inzidenz von Translokationen nicht signifikant (in der unbestrahlten Probe p=0,06, in der bestrahlten Probe noch größer). Aus dieser Untersuchung ergeben sich somit keine relevanten Konsequenzen im Sinne einer prädiktiven Wertigkeit.

Abb. 80: Translokationen ohne (Abb. 80a) und mit (Abb. 80b) in vitro-Bestrahlung im Vergleich E (empfindliche) vs. U (unempfindliche) Patienten

Abb. 80a

Abb. 80b



1.3.6.4 Tetraploide

Tetraploide Chromosomen kamen insgesamt nicht sehr häufig vor. In der unbestrahlten Probe fanden sie sich signifikant häufiger bei den empfindlichen Patienten, in der bestrahlten Probe verliert sich dieser Unterschied.

Abb. 81: Tetraploide ohne (Abb. 81a) und mit (Abb. 81b) in vitro-Bestrahlung im Vergleich E (empfindliche) vs. U (unempfindliche) Patienten

Abb. 81a

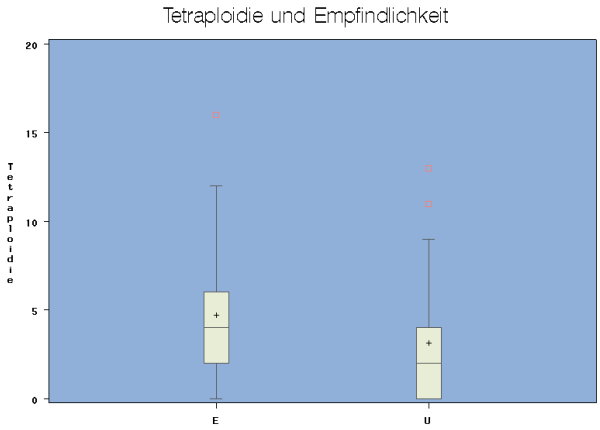
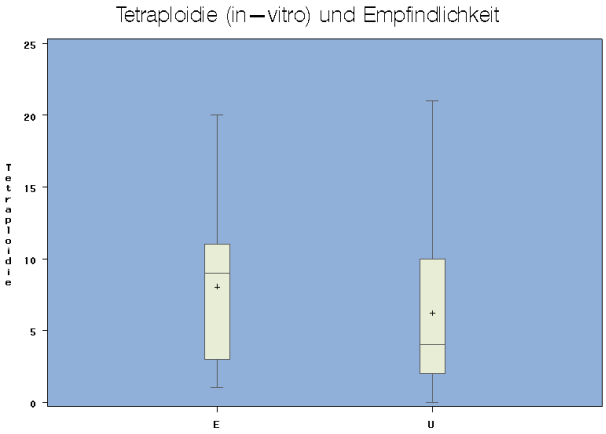


Abb. 81b



1.3.6.5 Summe aller Bruchereignisse und Bruchereignisse pro Zelle

Werden alle Bruchereignisse zusammengerechnet (für 200 Zellen) zeigt sich ein deutlich höherer Wert für die empfindlichen im Vergleich mit den nicht-empfindlichen Patienten. Nur bei 5 Patienten insgesamt war der Unterschied in anderer Richtung deutlich. Die Verteilung in den beiden Diagnosegruppen ist vergleichbar. Der Gruppenvergleich zeigt einen signifikanten Unterschied zwischen den empfindlichen und nicht-empfindlichen Patienten.

Abb. 82: Summe der Bruchereignisse pro Zelle im Paarvergleich der unbestrahlten Probe, getrennt nach Tumorentitäten (sumE=empfindlicher Partner, sumU=unempfindlicher Partner)

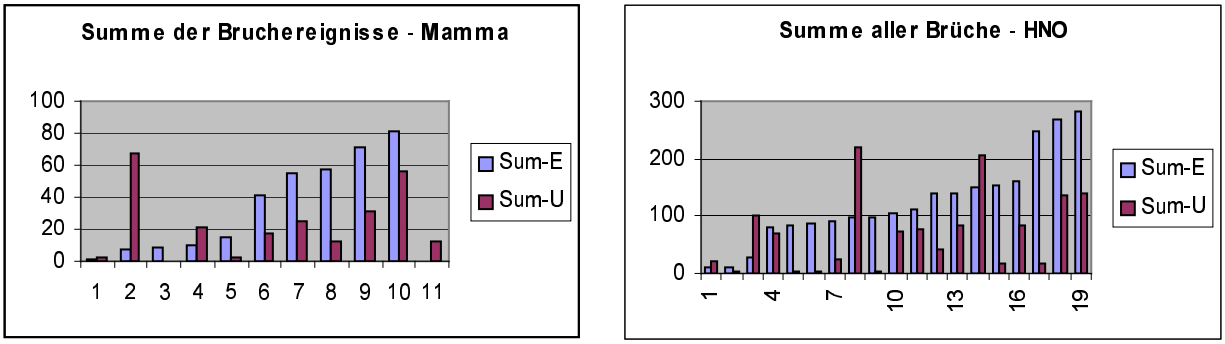


Abb. 83: Summe der Bruchereignisse im Paarvergleich der unbestrahlten Probe, getrennt nach Tumorentitäten (sumradE=empfindlicher Partner, sumradU=unempfindlicher Partner)

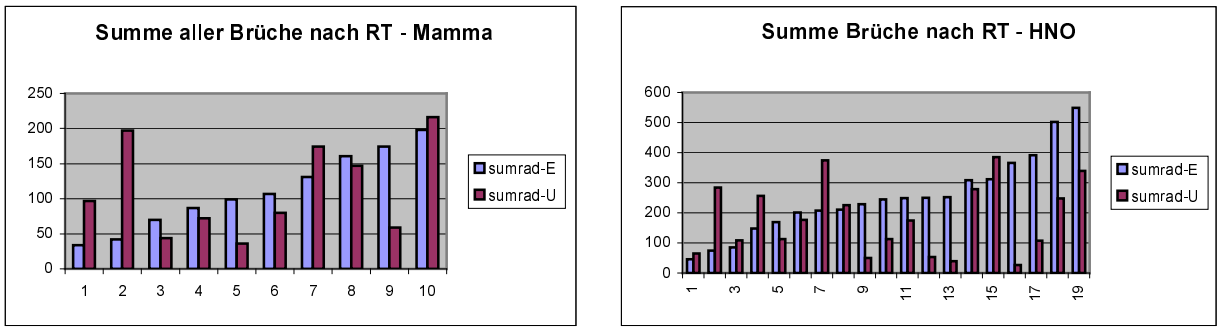
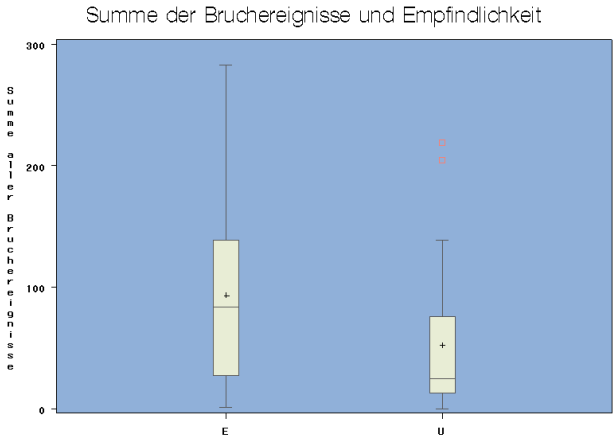
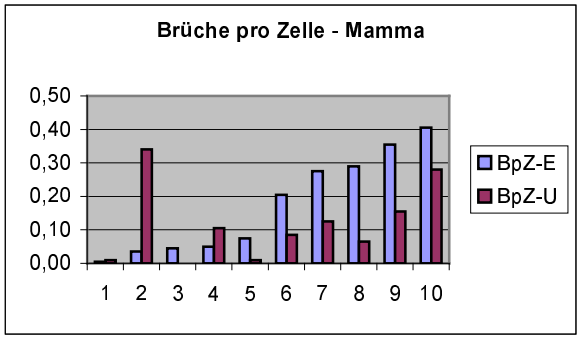


Abb. 84: Summe der Bruchereignisse ohne in vitro-Bestrahlung im Vergleich E (empfindliche) vs. U (unempfindliche) Patienten



Die Ergebnisse sehen identisch aus, wenn man die Werte in Bruchereignisse pro Zelle umrechnet.

Abb. 85: Zahl der Bruchereignisse pro Zelle im Paarvergleich der unbestrahlten Probe, getrennt nach Tumorentitäten (BpZ-E=empfindlicher Partner, BpZ-U=unempfindlicher Partner)



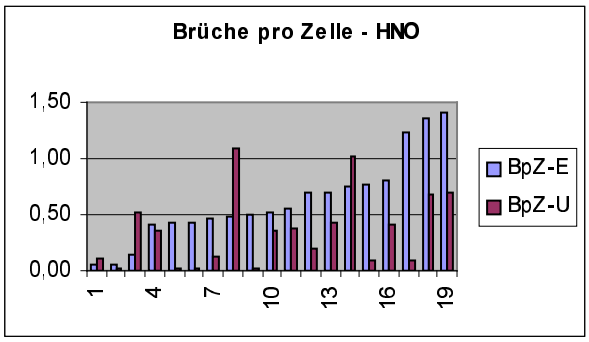
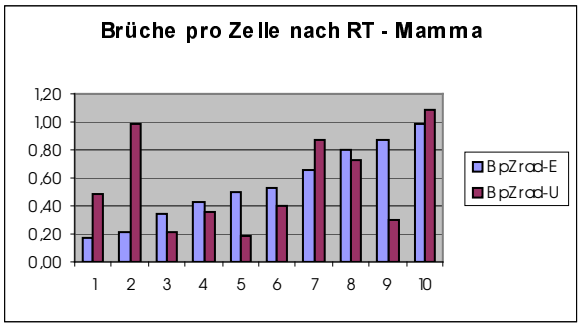
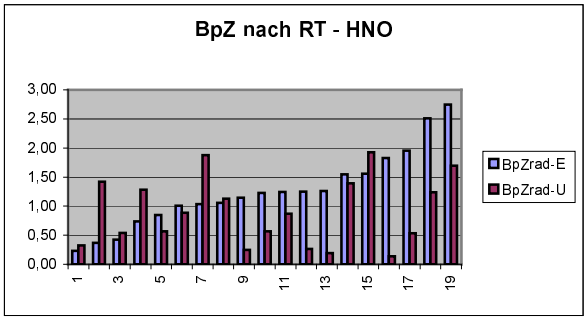


Abb. 86: Zahl der Bruchereignisse pro Zelle im Paarvergleich der bestrahlten Probe, getrennt nach Tumorentitäten (BpZradE=empfindlicher Partner, BpZradU=unempfindlicher Partner)





Auch hier zeigt sich im Vergleich der beiden Gruppen ein signifikanter Unterschied mit höheren Werten für die strahlenempfindlichen Patienten.

Abb. 87: Brüche pro Zelle ohne (Abb. 87a) und mit (Abb. 87b) in vitro-Bestrahlung im Vergleich E (empfindliche) vs. U (unempfindliche) Patienten

Abb. 87a

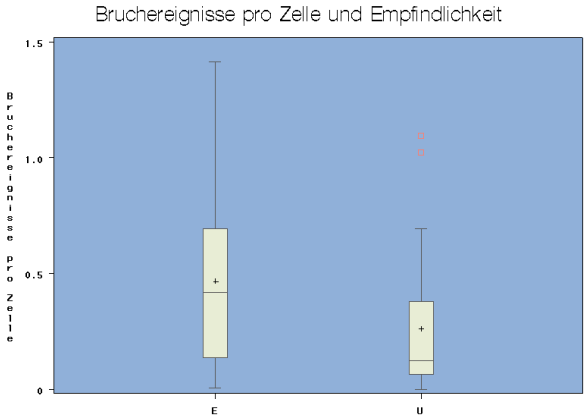
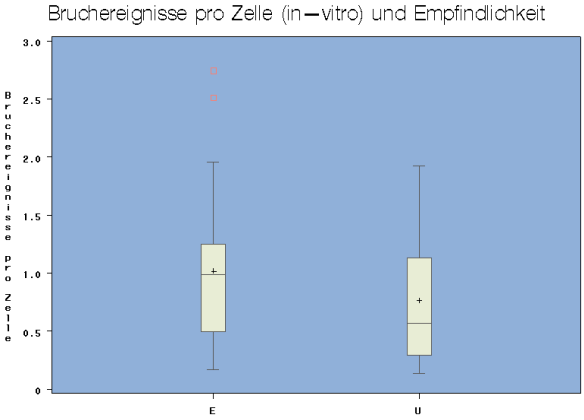


Abb. 87b



1.3.6.6 Mikronuklei

Bei den Mikronuklei wird zunächst für die am frischen Blut durchgeführte Analyse gezeigt, dass bis auf wenige Ausnahmen die empfindlichen Patienten höhere Werte hatten als die unempfindlichen (Abb. 88). Im Vergleich der beiden Gruppen zeigt sich jedoch kein signifikanter Unterschied (Abb. 89), sodass dieser erste optische Eindruck wohl täuscht.

Abb. 88: Rate der Mikronuklei direkt im Paarvergleich der unbestrahlten Probe, getrennt nach Tumorentitäten (MNdirE=empfindlicher Partner, MNdirU=unempfindlicher Partner)

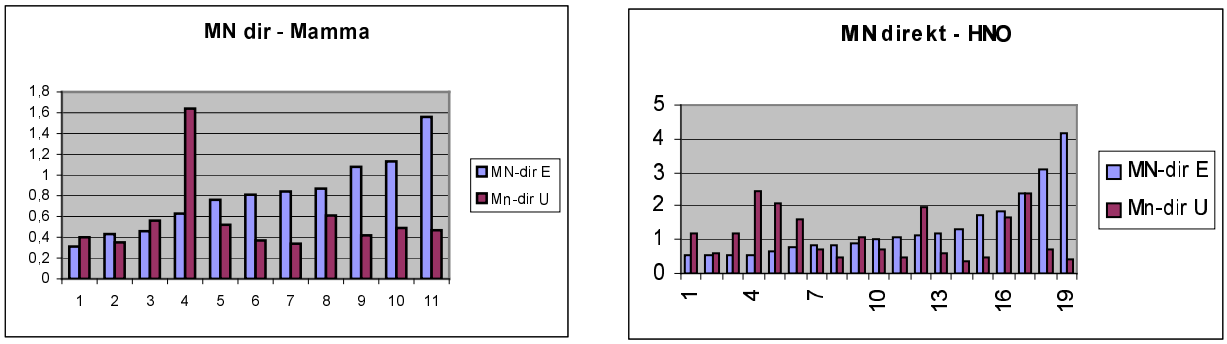
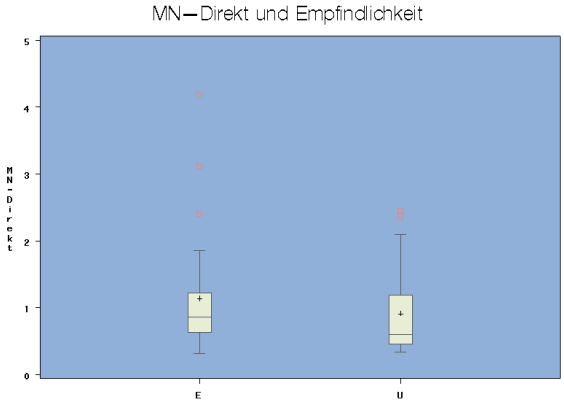


Abb. 89: Mikronuklei direkt im Vergleich E (empfindliche) vs. U (unempfindliche) Patienten



Für die übrigen Untersuchungszeitpunkte der Mikronuklei (nach Kultivierung und Bestrahlung mit unterschiedlicher Dosis) stellen sich in den Dosis-Effekt-Kurven mit einer Tendenz zu mehr MN bei steigender Dosis dar, ohne zwischen den einzelnen Gruppen bei einfacher Betrachtung einen Unterschied erkennen zu lassen.

Abb. 90: Verlauf der Mikronukleus-Dosis-Effekt-Kurven bei empfindlichen Patienten im Vergleich der unbestrahlten Probe, getrennt nach Tumorentitäten

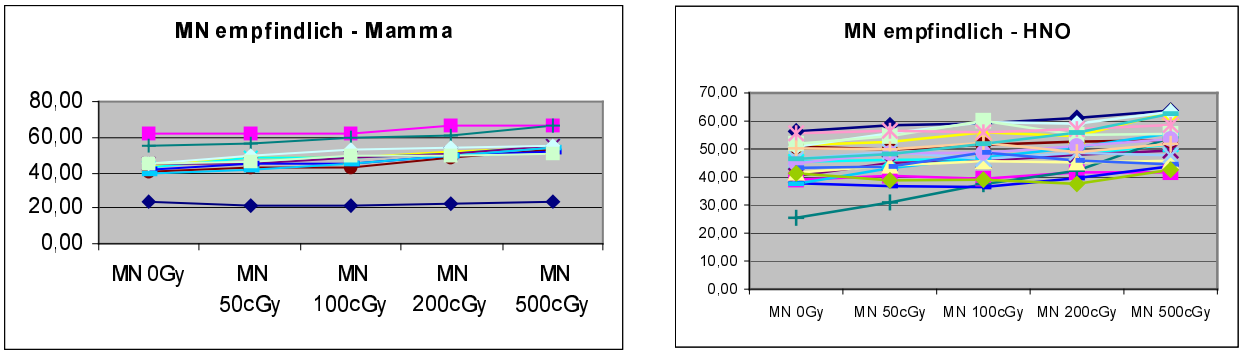
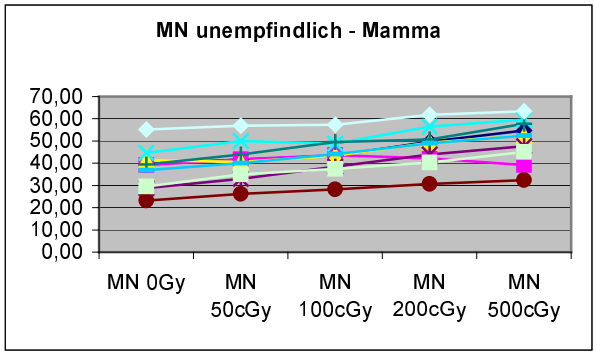
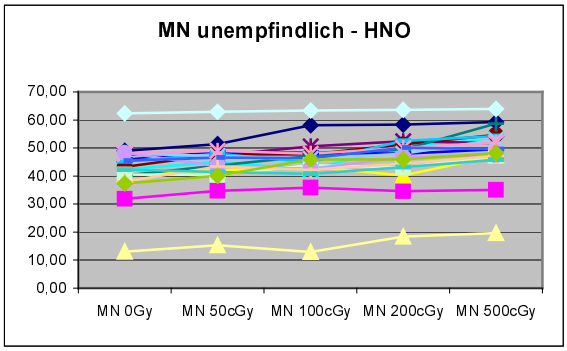


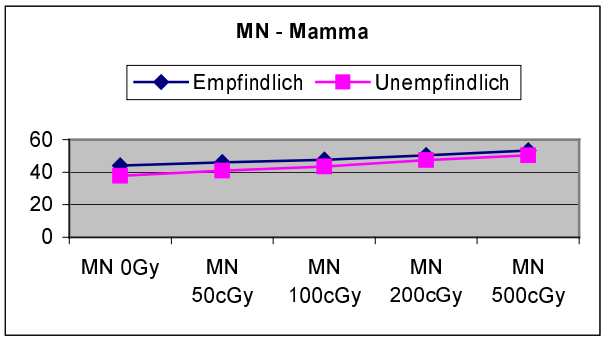
Abb. 91: Verlauf der Mikronukleus-Dosiswirkungskurven bei unempfindlichen Patienten im Vergleich der unbestrahlten Probe, getrennt nach Tumorentitäten

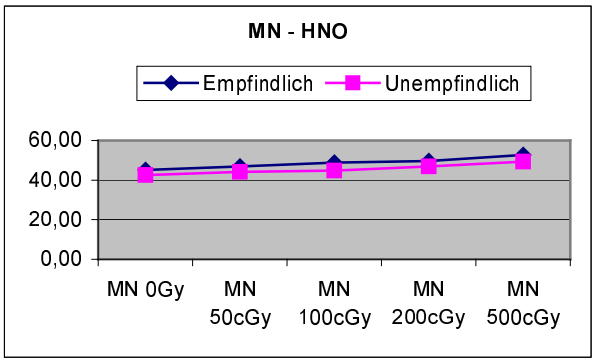




Ein Gruppenvergleich der Dosis-Effekt-Kurven ist möglich, wenn in jeder Gruppe der Mittelwert pro Untersuchungszeitpunkt gebildet wird und diese Kurven nebeneinenander aufgetragen werden (Abb. 92). Hier sieht man eine ausgeprägte Parallelität.

Abb. 92: Verlauf der Mikronukleus-Dosis-Effekt-Kurven, getrennt nach Tumorentitäten





Im Gruppenvergleich sieht das Bild etwas inhomogen aus. Während einige Zeitpunkte einen signifikanten Unterschied zeigen (z.B. 1Gy, p=0,03), sind andere Zeitpunkte knapp nicht (0,5Gy, p=0,056) oder bei weitem nicht signifikant (z.B. 0 Gy, 2 Gy, 5 Gy) unterschiedlich.

Abb. 93: Mikronuklei nach Bestrahlung in vitro mit 1 Gy (Abb. 93a) und mit 0,5 Gy (Abb. 93b) im Vergleich E (empfindliche) vs. U (unempfindliche) Patienten

Abb. 93a

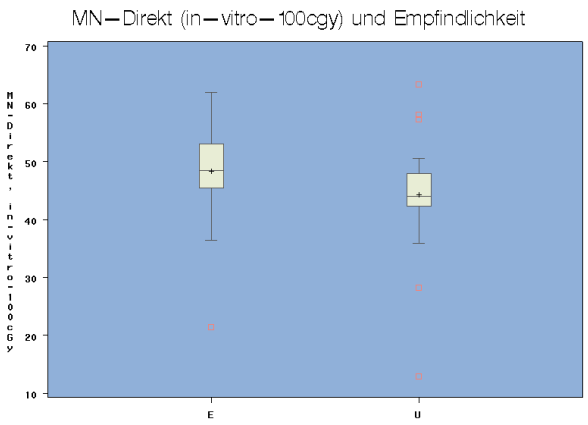
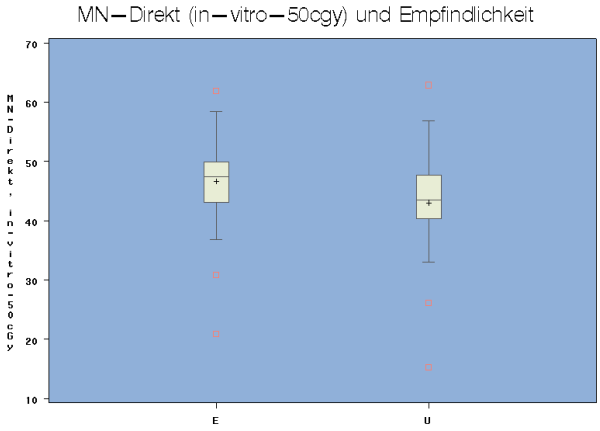


Abb. 93b



1.3.6.7 Antioxidative Kapazität

Bereits der einfache Blick auf den Paarweise dargestellten Wert macht deutlich, dass sich bei der antioxidativen Kapazität kein Unterschied zwischen empfindlichen und nicht-empfindlichen Patienten findet.

Abb. 94: Antioxidative Kapazität mit der ABTS_Methode im Paarvergleich, getrennt nach Tumorentitäten (ABTS-E=empfindlicher Partner, ABTS-U=unempfindlicher Partner)

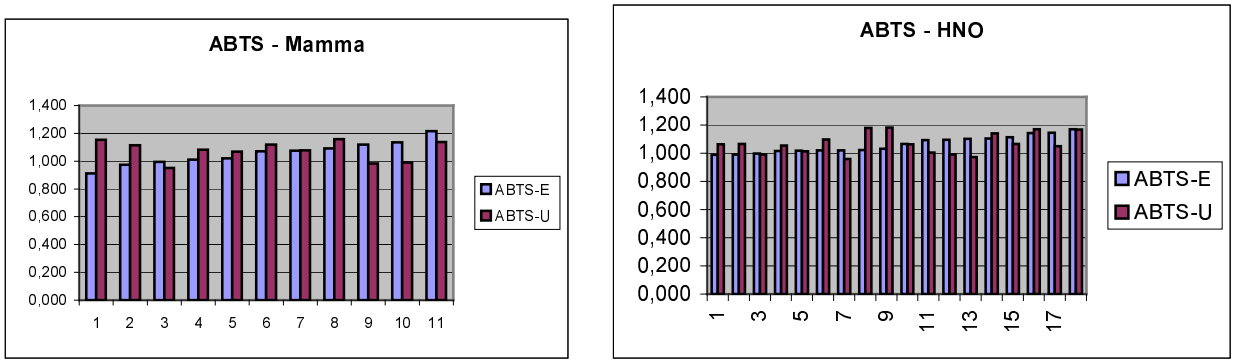
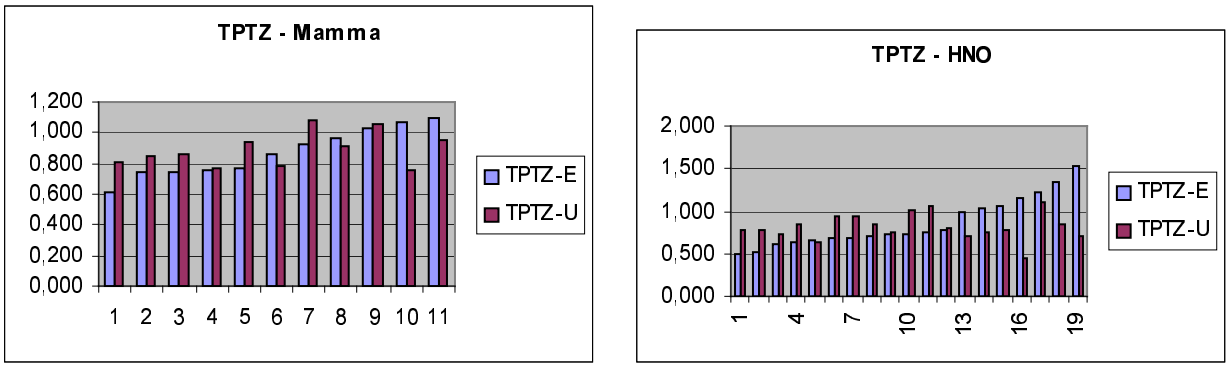
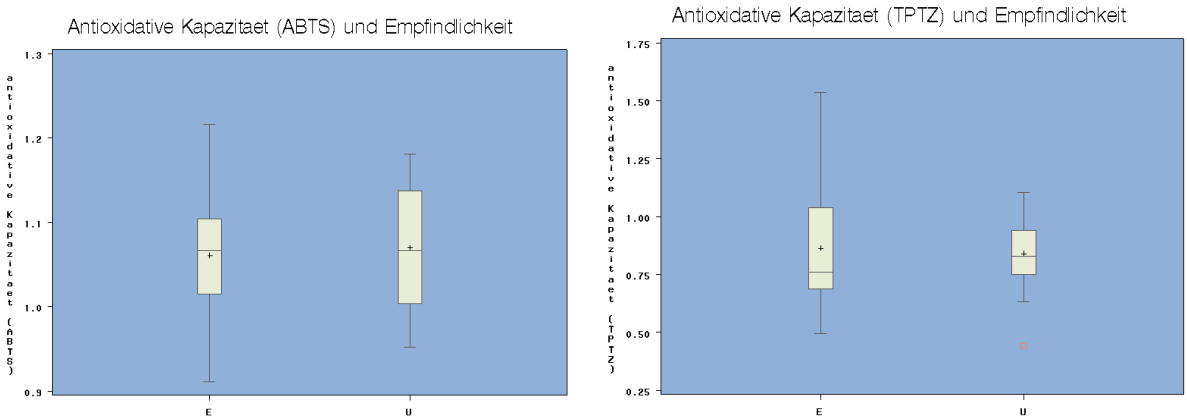


Abb. 95: Antioxidative Kapazität mit der TPTZ-Methode im Paarvergleich, getrennt nach Tumorentitäten (TPTZ-E=empfindlicher Partner, TPTZ-U=unempfindlicher Partner)



Diese Einschätzung wird durch den Gruppenvergleich bestätigt, hier zeigt die Statistik keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

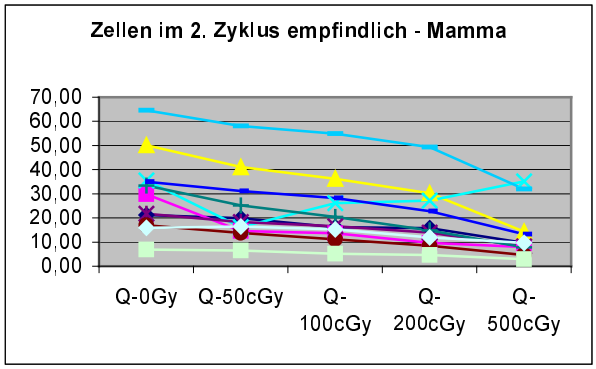
Abb. 96: Antioxidative Kapazität nach ABTS (Abb. 96a) und TPTZ (Abb. 96b) im Vergleich E (empfindliche) vs. U (unempfindliche) Patienten



1.3.6.8 Quenching

Die Zahl der Zellen im zweiten Teilungszyklus nimmt in allen Patientengruppen mit steigender Dosis deutlich ab. Dabei scheinen die Werte bei den empfindlichen Patienten etwas stärker zu streuen bei insgesamt vergleichbarem Verlauf der Dosis-Effekt-Kurven.

Abb. 97: Verlauf der Quenching-Dosis-Effekt-Kurven bei empfindlichen Patienten getrennt nach Tumorentitäten



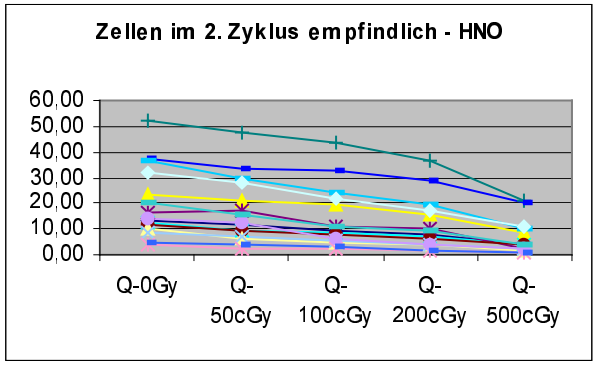
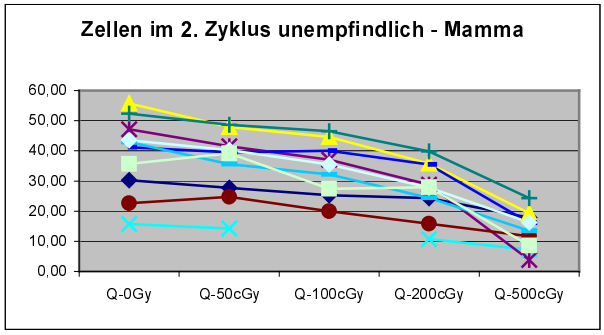
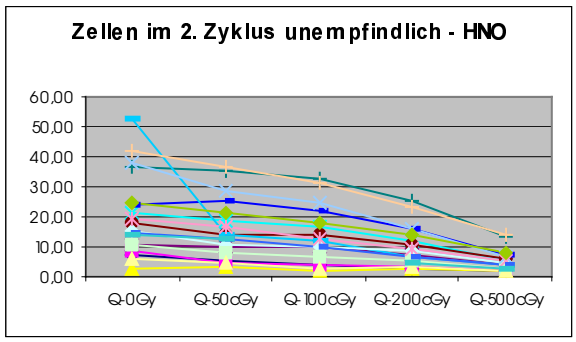


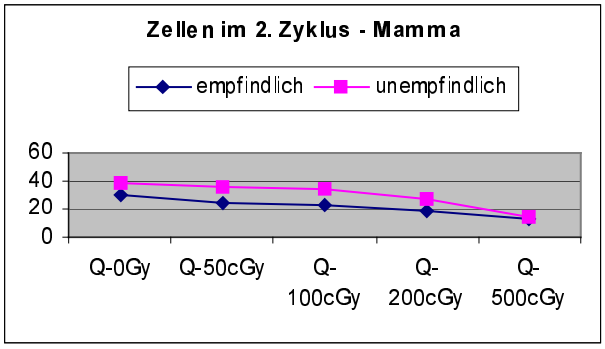
Abb. 98: Verlauf der Quenching-Dosis-Effekt-Kurven bei unempfindlichen Patienten getrennt nach Tumorentitäten

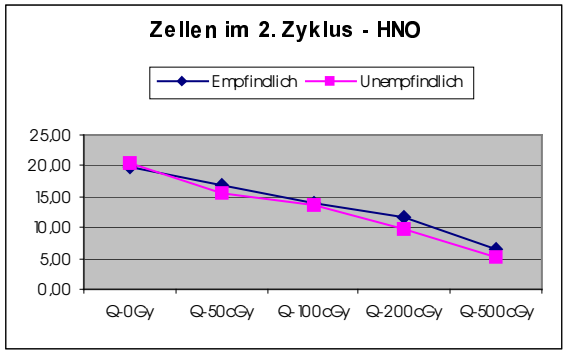




Bildet man zu jedem Dosispunkt pro Gruppe (E vs. U) einen Mittelwert und trägt diesen als Dosis-Effekt-Kurve auf, zeigt sich erneut eine erstaunliche Parallelität der Kurven (Abb. 99).

Abb. 99: Verlauf der Quenching-Dosis-Effekt-Kurven nach Bildung von Mittelwerten getrennt nach Tumorentitäten





Dementsprechend findet sich auch im Gruppenvergleich kein signifikanter Unterschied, hier beispielhaft gezeigt an den Werten für die Kontrolle und die Werte bei 2 Gy in vitro Bestrahlung.

Abb. 100: Quenching-Werte ohne (Abb. 100a) und nach Bestrahlung in vitro mit 2 Gy (Abb. 100b) im Vergleich E (empfindliche) vs. U (unempfindliche) Patienten

Abb. 100a

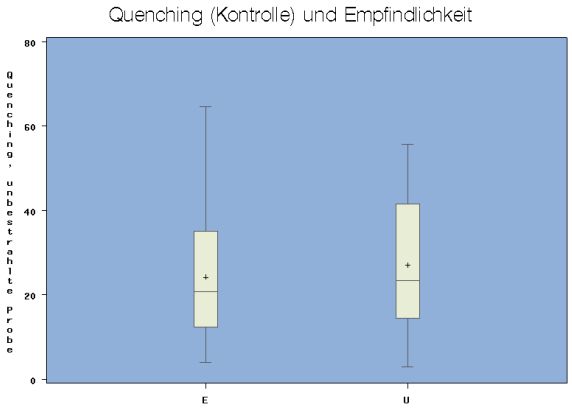
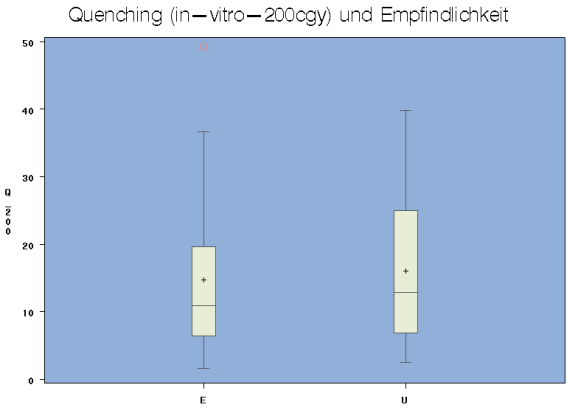


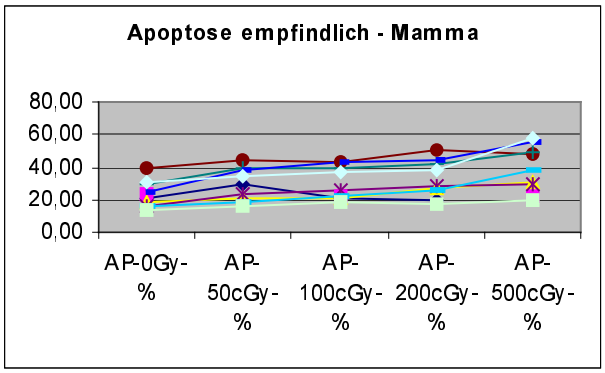
Abb. 100b



1.3.6.9 Apoptose

Die Ergebnisse der Apoptosemessung werden in gleicher Weise gezeigt wie die bisherigen. Auch hier scheint die Streuung bei den empfindlichen etwas größer zu sein. Kopf-Hals-Patienten und Mamma-Patientinnen verhalten sich gleich, und der Gruppenvergleich zeigt keinen signifikanten Unterschied zwischen den empfindlichen und den nicht-empfindlichen Patienten.

Abb. 101: Verlauf der Apoptose-Dosis-Effekt-Kurven bei empfindlichen Patienten getrennt nach Tumorentitäten



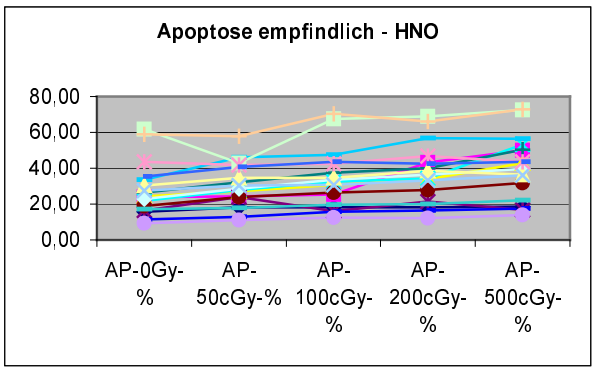
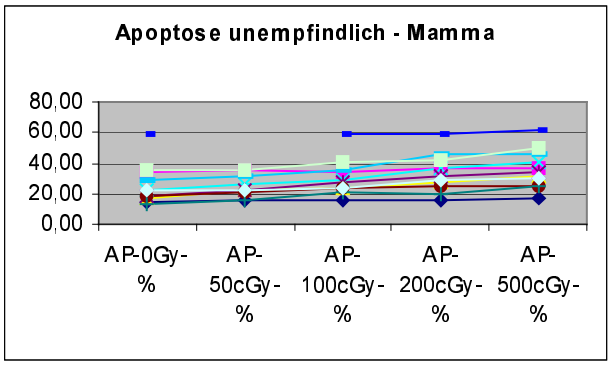


Abb. 102: Verlauf der Apoptose-Dosis-Effekt-Kurven bei unempfindlichen Patienten getrennt nach Tumorentitäten



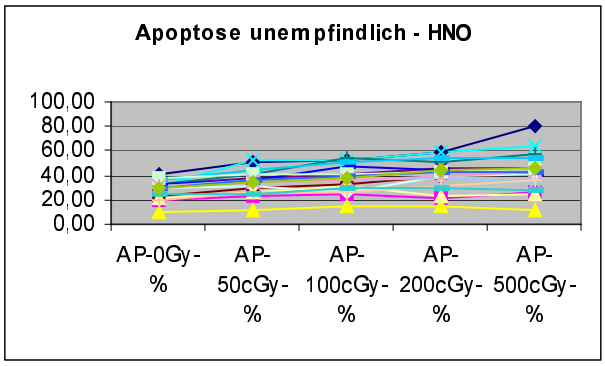
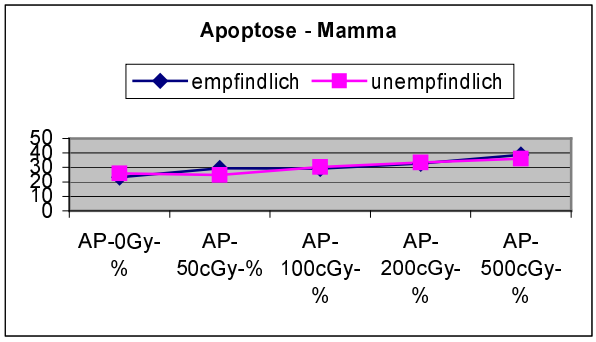


Abb. 103: Verlauf der Apoptose-Dosis-Effekt-Kurven nach Bildung von Mittelwerten getrennt nach Tumorentitäten getrennt nach Tumorentitäten



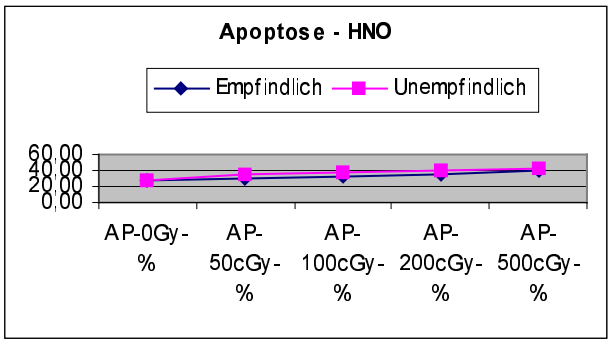
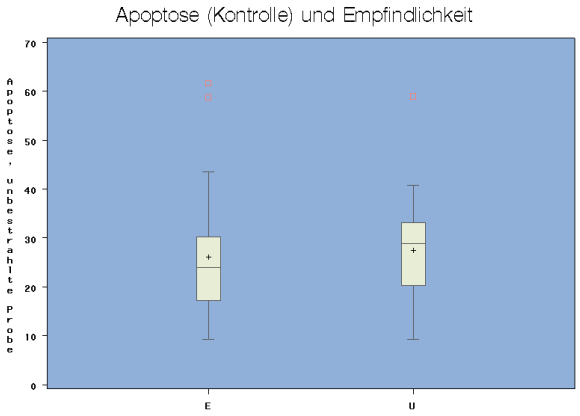
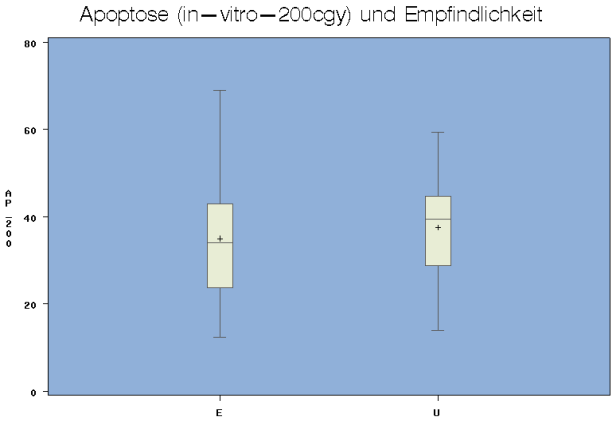


Abb. 104: Apoptose ohne (Abb. 104a) und mit 2 Gy Bestrahlung in vitro (Abb. 104b) im Vergleich E (empfindliche) vs. U (unempfindliche) Patienten

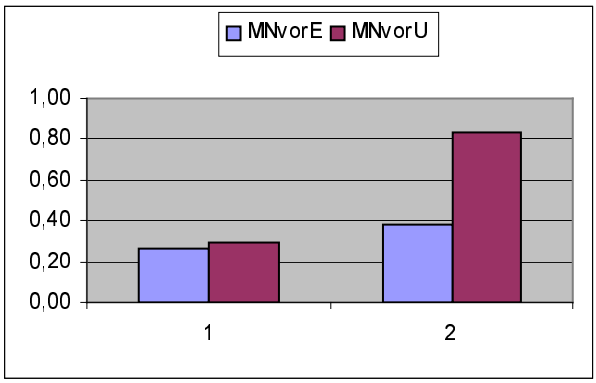


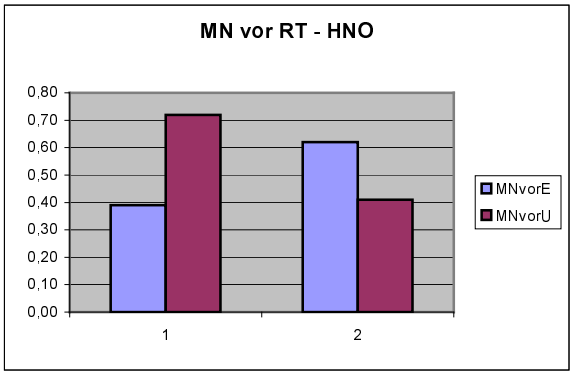


1.3.6.10 MN vor Radiotherapie (Subgruppe)

Von den 30 gematchten Paaren gab es vier, die auch den Wert für diese Subanalyse vorliegen hatten. Im Paarvergleich haben in drei Fällen die unempfindlichen Patienten höhere Werte.

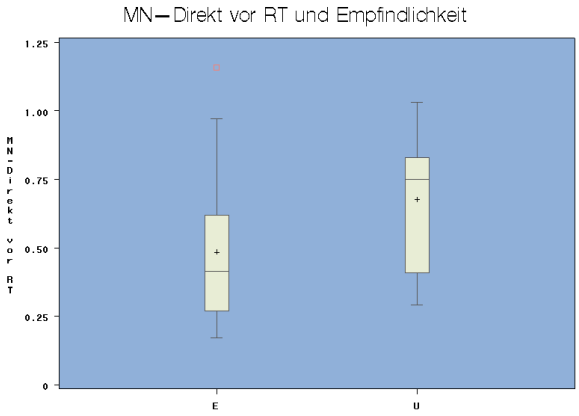
Abb. 105: Vergleich der Mikronuklei vor Beginn der Bestrahlung im Paarvergleich, getrennt nach Tumorentitäten (MNvor-E=empfindlicher Partner, MNvor-U=unempfindlicher Partner)
Abb. 105 a Patientinnen mit Mamma-Ca Abb. 105 b Patienten mit Kopf-Hals-Tumor





Insgesamt gab es bei 20 Patienten aus diesem Kollektiv einen Wert für Mikronukleus-Messung direkt nach Blutabnahme vor Beginn der Bestrahlung (14 Empfindliche, 8 Gematchte). Um mehr Werte zu haben, wurden diese miteinander verglichen. Auch in diesem Gruppenvergleich findet sich kein signifikanter Unterschied.

Abb. 106: MN vor Bestrahlung im Vergleich E (empfindliche) vs. U (unempfindliche) Patienten



1.3.6.11 Zusammenfassung der signifikanten Ergebnisse

Der Test ist signifikant für dizentrische Chromosomen (p=0,019), Fragmente (p= 0,036), tetraploide Chromosomen (p=0,039), die Summe der Bruchereignisse (p=0,024), die Rate der Bruchereignisse pro Zelle (p=0,024) und die Zahl dizentrischer Chromosomen nach Bestrahlung der Probe mit 2 Gy (p=0,04). Knapp nicht signifikant sind die Translokationen (p=0,058) und die Mikronuklei direkt nach Blutabnahme gemessen (p=0,072). Die Reihe der weiteren Tests mit Mikronukleusinduktion sind teils nicht signifikant (0 Gy, 2 Gy, 5 Gy), teils knapp nicht signifikant (0,5 Gy, p=0,056); ein weiterer ist signifikant (1 Gy, p=0,03).

1.3.6.12 Korrelation der Parameter untereinander

Nachdem für die logistische Regression nur ein einziger Parameter eingeschlossen werden konnte (s. Kap. 1.3.7), wurden weitere Korrelationen nicht statistisch geprüft. Zur Intensivierung der Exploration werden im Folgenden einige Werte graphisch gegenübergestellt. In jeder der Graphiken steht die Gruppe 0 für unempfindliche Patienten und die Gruppe 1 für empfindliche Patienten. Ein Zusammenhang zwischen der Rate von dizentrischen Chromosomen und Mikronuklei lässt sich nach der graphischen Darstellung nicht vermuten.

Abb. 107: MN dir gegen dic

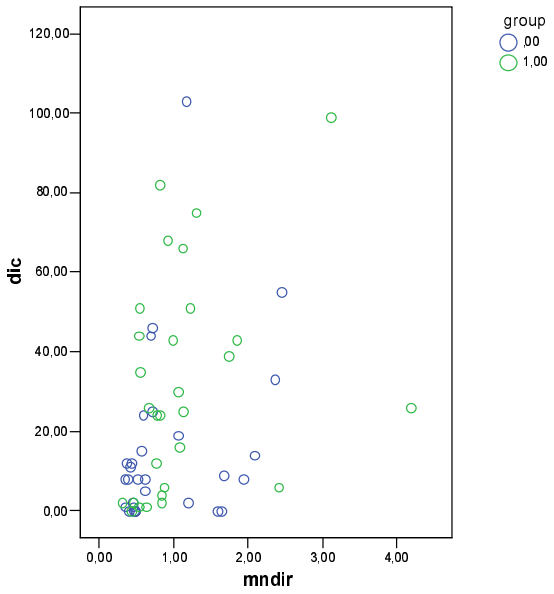


Abb. 108: Dizentrische gegen Mikronuklei bei 5 Gy aufgetragen

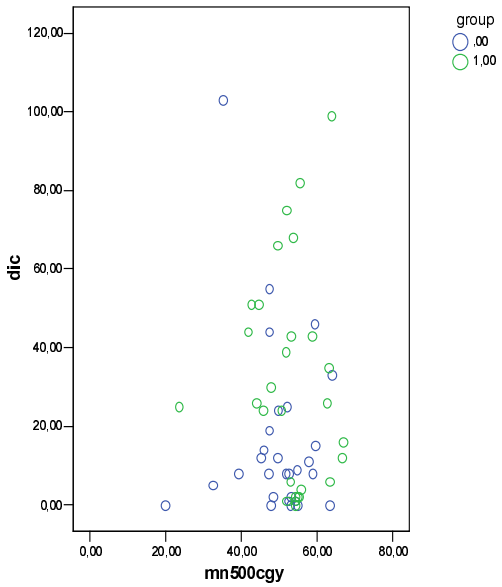


Abb. 109: Dizentrische gegen die Mikronuklei direkt

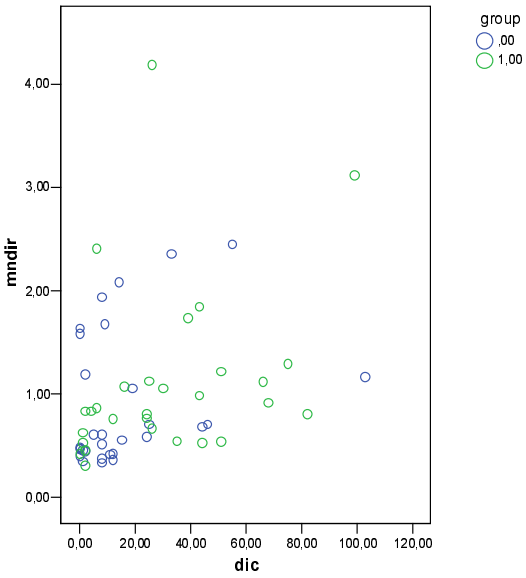
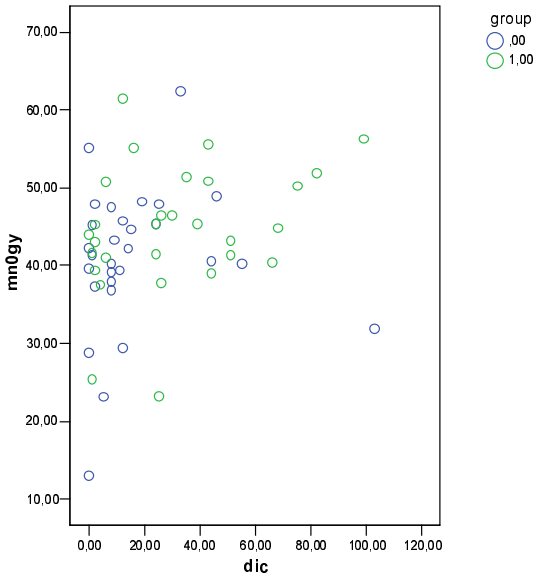


Abb. 110: Dizentrische gegen die Mikronuklei in der inkubierten, aber nicht bestrahlten Kontrollprobe



Die Auftragung von antioxidativer Kapazität gegen die dizentrischen Chromosomen zeigt ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen beiden Werten (Abb. 111). Auch die beiden Werte für antioxidative Kapazität hängen nicht zusammen (Abb. 112). Gleiches gilt für den Vergleich mit der Zahl der Zellen im 2. Zyklus 5 Gy (Abb. 113) oder die Apoptoserate bei 5 Gy (Abb. 114).

Abb. 111: Dizentrische gegen antioxidative Kapazität aufgetragen (ABTS)

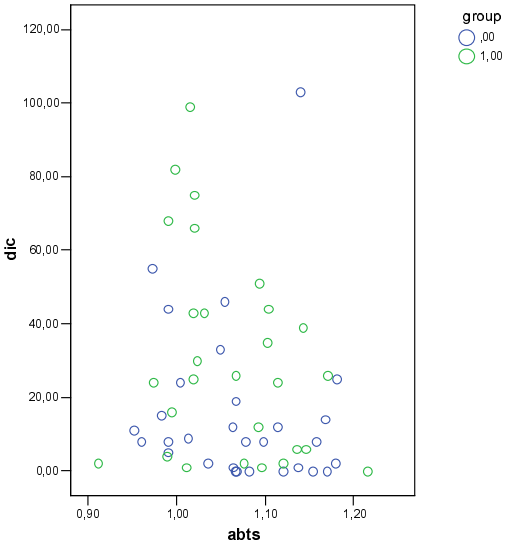


Abb. 112: Gegenüberstellung von Ergebnissen der Messung von antioxidativer Kapazität mit ABTS und TPTZ-Methode

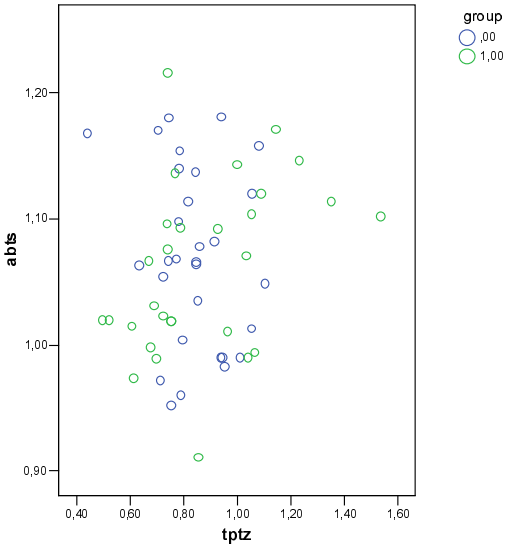


Abb. 110: Dizentrische gegen die Zahl der Zellen im 2. Zellzyklus aufgetragen

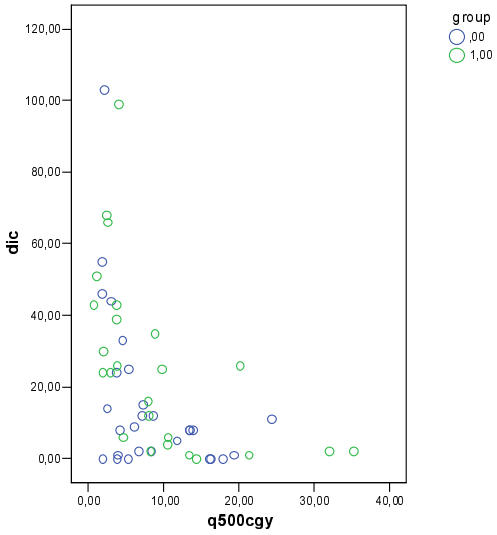


Abb. 111: Dizentrische gegen die Apoptoserate bei 5 Gy aufgetragen

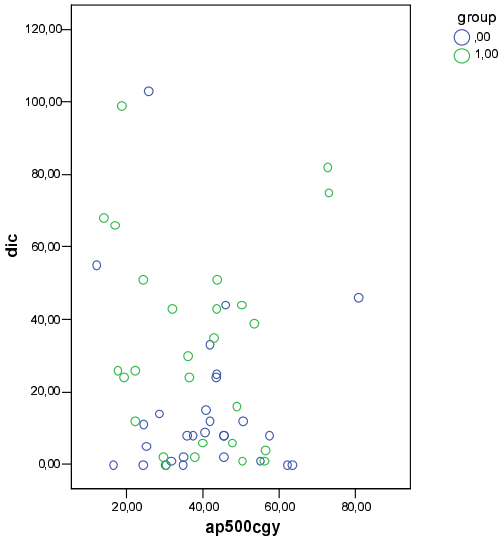
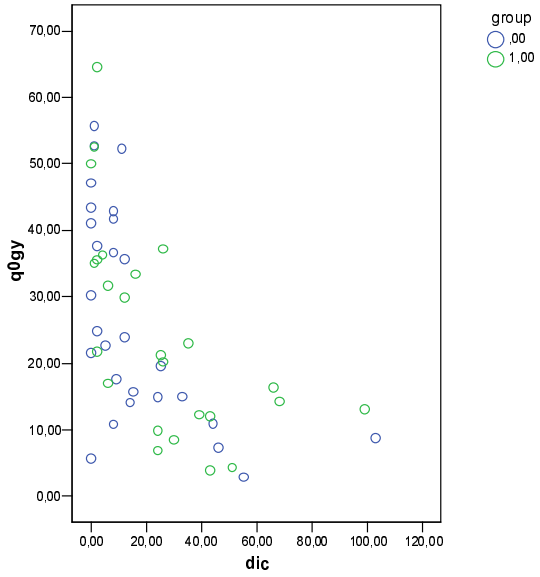


Abb. 112: Dizentrische gegen die Zahl der Zellen im 2. Zyklus ohne in-vitro-Bestrahlung



1.3.6.13 Zusammenfassung

Bei Untersuchung des Zusammenhangs von biologischem Parameter und klinischer Beurteilung der Strahlenempfindlichkeit zeigen sich konsistent die Parameter der direkten Chromosomenbruchanalyse in der unbestrahlten Probe als signifikant: dizentrische Chromosomen und azentrische Fragmente, Summe aller Bruchereignisse und Brüche pro Zelle. Somit halten wir diese Parameter für am ehesten geeignet, um im Rahmen prädiktiver Assays eingesetzt zu werden. Zur Bestimmung des tatsächlichen Vorhersagewertes wird im folgenden eine logistische Regression der Parameter durchgeführt.

1.3.7 Logistische Regression der Parameter

1.3.7.1 Methodik

Bei der logistischen Regression wird ein gerichteter Zusammenhang zwischen einer oder mehreren Einflussvariablen (in unserem Fall dizentrische Chromosomen usw.) und einer kategorialen Zielvariablen (hier: Empfindlichkeit) untersucht. Es wird also mit diesem Verfahren überprüft, ob bestimmte Faktoren die Verteilung einer kategorialen Zielvariablen beeinflussen. Dabei besteht eine gewisse Ähnlichkeit zum linearen Regressionsmodell; der Unterschied besteht in der Zielvariablen, die beim linearen Regressionsmodell eine quantitative und keine kategoriale (dichotome/nominale/ordinale) Variable ist.

Das logistische Regressionsmodell modelliert die logit-transformierte Wahrscheinlichkeit für das Auftreten der Zielvariablen in Abhängigkeit von den Einflussgrößen. Die Modellparameter werden mit der Maximum-Likelihood-Methode geschätzt. Das Modell birgt hohe Flexibilität an Modellierungsmöglichkeiten für Einflussgrößen unterschiedlichen Skalenniveaus. Vorgegangen wurde mittels stepwise selection, als Vorgabe für die Aufnahme wurde ein Signifikanzniveau von 20% gewählt.

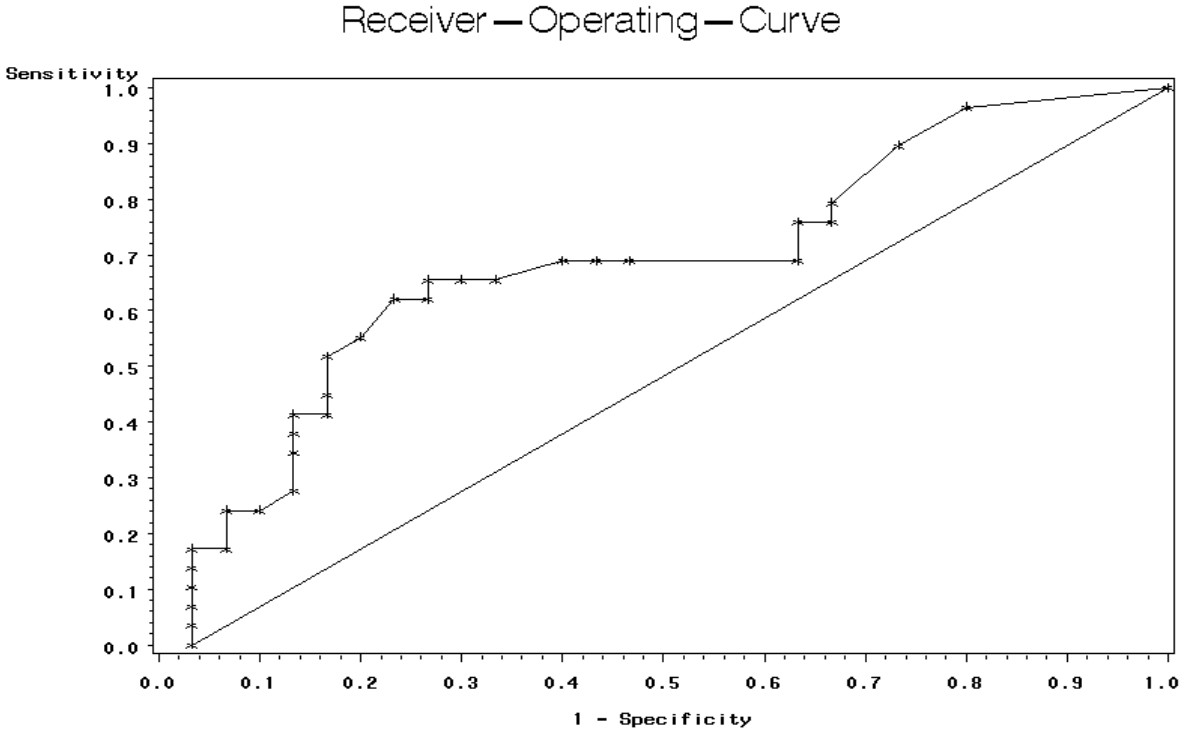
1.3.7.2 Ergebnisse

Das Modell führt als ersten Parameter die dizentrischen Chromosomen ein. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein höherer Wert für Dizentrische mit einer höheren Empfindlichkeit einhergeht liegt bei p=0,0305 und ist damit signifikant. Bei der 1:1 Testung der Einzelwerte gegeneinander sind 67% der Ergebnisse mit dieser Annahme konkordant. Die Wahrscheinlichkeit für Empfindlichkeit lässt sich ausdrücken als Funktion:

$$\frac{1}{1 + e^{-(-6304+0{,}0267\ \mathrm{Dic})}}$$

Keiner der anderen Parameter erfüllte die Einschlusskriterien eines Signifikanzniveaus von 20%. Die aus dieser Berechung hervorgehende ROC Kurve sieht folgendermaßen aus:

Abb. 113: ROC-Kurve



Einige Anmerkungen zur besseren Verständlichkeit der Kurve. An der fehlenden Glätte der ROC-Kurve kann man erkennen, dass die Zahl berücksichtigter Patienten insgesamt zu klein ist, um eine schöne Kurve zu erstellen. Ein idealer Vorhersagewert hätte eine hohe Sensitivät und eine hohe Spezifität.
Die y-Achse beschreibt den Anteil der Patienten, die aufgrund ihres Wertes auch richtig als empfindlich erkannt werden (Sensitivität, Fähigkeit eines Tests, empfindliche zu erkennen). Sie wird auch charakterisiert durch die Rate an falsch-negativen Patienten. Die x-Achse beschreibt den Anteil von Patienten, die aufgrund ihres Wertes auch korrekt als unempfindlich erkannt werden (Spezifität). Die Spezifität wird charakterisiert durch die Rate an falsch positiven Patienten. Die Vorhersagegenauigkeit ist das Produkt dieser beiden Werte. In diesem Fall geht eine Sensitivität von 70% mit einer Spezifität von ebenfalls ca. 70% einher.

1.3.8 Zusammenfassung aller Ergebnisse dieses Kapitels

Sind Patienten nach klinischer Auffälligkeit prospektiv und nach definierten Kriterien unter Berücksichtigung aller bekannten Einflussfaktoren in Gruppen eingeteilt, so zeigen sich in den nach Teilkörperbestrahlung gewonnenen Lymphozyten signifikant unterschiedliche Werte für das Auftreten dizentrischer Chromosomen, azentrischer Fragmente, Summe aller Bruchereignisse und Brüche pro Zelle sowie dizentrische Chromosomen nach in-vitro Bestrahlung. In der logistischen Regression zeigt sich ein positiver Vorhersagewert nur für die dizentrischen Chromosomen in dem Sinne, dass bei höheren Werten für Dizentrics mit höherer Wahrscheinlichkeit eine klinische Empfindlichkeit vorliegt. Spezifität und Sensitivität der Vorhersage anhand eines vorliegenden Wertes sind aber noch zu ungenau und liegen bei ungefähr 67%. Somit ist zwar eine Korrelation gegeben, der mit diesem Modell berechnete Vorhersagewert ist aber gering.

2 Voraussichtlicher Nutzen im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplanes

Grundsätzlich gibt es viele Gründe, warum ein Test mit bewiesenem Wert für die Prädiktion der individuellen Strahlenempfindlichkeit sinnvoll wäre. Der Erfolg einer Behandlung bösartiger Tumoren mit Strahlentherapie ist ganz wesentlich abhängig von der Dosis. Dies gilt insbesondere für die Fälle, in denen ein vorhandener Tumor mit einer primären Strahlentherapie behandelt werden soll. Dabei stellt sich die applizierte Dosis dar als ein Kompromiss aus der für die Tumorvernichtung notwendige Dosis und die Dosis, bei der die Normalgewebstoleranz überschritten wird. Nur so kann eine unkomplizierte Heilung erreicht werden. Eine Optimierung der Therapieergebnisse ist für die Strahlentherapie im Allgemeinen nur dann erreichbar, wenn entweder die Dosis-Effekt-Kurve für die Tumorvernichtung zu geringeren Dosen verschoben werden kann oder die Dosis-Effekt-Kurve für die Normalgewebsschäden zu höheren Dosen verschoben werden kann (nach Herrmann/Baumann 1997).

Dabei ist jedoch die Definition der Toleranzdosis ein Faktor, der nicht leicht zu beschreiben und klar festgeschrieben ist. Auf zellulärer Ebene lässt sich dies einfach beantworten: Dosistoleranz wird beschrieben durch den Anteil der Zellen, die z.B. eine Bestrahlung mit 2 Gy überleben (Survival fraction for 2 Gy, SF 2). Diese Erkenntnisse sind für viele Fragen relevant, können jedoch nicht auf Gewebe im Menschen übertragen werden und Aussagen zur Dosistoleranz ermöglichen. Im Tierexperiment dagegen kann durch definierte Belastung von Geweben mit Bestrahlung sehr genau analysiert werden, welche feingeweblichen Veränderungen induziert werden und welche funktionellen Folgen das für den Organismus hat. Trotz der höheren Genauigkeiten und Aussagekraft muss jedoch festgehalten werden, dass auch diese Ergebnisse nur bedingt auf den Menschen übertragen werden können; die Mechanismen der Gewebsantwort und die beteiligten Komponenten sind zu komplex und Artspezifisch.
Zur klinischen Definition der Toleranz von Normalgeweben werden daher die Faktoren der TD 5/5 (Toleranzdosis 5/5, 5% schwere Spätnebenwirkungen innerhalb von 5 Jahren nach Therapie)

und TD 50/5 (50% schwere Nebenwirkungen innerhalb von 5 Jahren) herangezogen. Dabei muss immer die Abhängigkeit dieser Parameter von Dosisintensität und Therapiekombinationen berücksichtigt werden. Zur Toleranzdosis gibt es eine ganze Reihe aktueller Publikationen, die für einzelne Gewebe diese Dosis an bestimmten Patientenkollektiven analysieren. In vielen Fällen wird jedoch nach wie vor auf eine alte Publikation von Emami et al (1991) Bezug genommen. Hier wurde die Inzidenz von Nebenwirkungen aus Publikationen dieser Zeit und die eigenen Erfahrungen der beteiligten Experten als Referenzen zugrunde gelegt. Für viele schwere Spätreaktionen gilt jedoch, dass eine Inzidenz von 5% nach 5 Jahren als zu hoch nicht akzeptiert werden kann (z.B. gilt dies für die Querschnittslähmung bei Rückenmarksbestrahlung). Bei anderen Spätnebenwirkungen wird man im Einzelfall eine Inzidenz von mehr als 5% in 5 Jahren akzeptieren, wenn dadurch der Gewinn an Lebenszeit ausreichend hoch beziffert werden kann.

All diese Bemühungen um die Definition von Toleranzdosen und Risiko zeigen: letztendlich geht es in der Strahlentherapie immer darum, vorhandene Spielräume zur Dosissteigerung im Sinne des individuellen Patienten auszunutzen. Das Konzept der Prädiktion individueller Strahlenempfindlichkeit geht dabei den umgekehrten Weg: man hinterfragt, welche Patienten es sind, die diese starken Nebenwirkungen entwickeln. Lässt sich die Gruppe der Patienten, die stark reagieren, durch ein biologisches Merkmal charakterisieren – eben als besonders strahlenempfindlich? Wenn man diese Patienten aussortiert aus der Gesamtgruppe der Patienten, kann dann die Dosis weiter gesteigert werden, und wie ist dann das Risiko für die verbliebenen Patienten? Wäre eine solche Sortierung der Patienten vor Therapiebeginn möglich, könnte die therapeutische Breite der Bestrahlung für quasi jede Bestrahlungsregion dadurch erweitert werden, dass die Dosis-Effektkurve für die Normalgewebsschädigung zu höheren Dosen verschoben wird.

Der potenzielle Nutzen einer Vorhersage der individuellen Empfindlichkeit lässt sich somit für viele Aspekte der Bestrahlung herleiten. Betrachtet man die Gruppe der Patienten, die vor Beginn der Therapie als empfindlich erkannt werden, so kann durch Variation der Bestrahlungsparameter und intensivierte Supportivtherapie die Nebenwirkungsrate gesenkt werden und verbesserte Aufklärung erleichtert die Situation für den betroffenen Patienten. Noch mehr Vorteile können für die Patienten mit nicht-erhöhter Strahlenempfindlichkeit abgeleitet werden. Für adjuvante Therapie mit niedriger Dosis können Ängste des Patienten bezüglich der Nebenwirkungen fundiert beruhigt werden. Für die primäre Therapie bösartiger Tumoren wird eine Dosissteigerung möglich ohne erhöhte Inzidenz schwerer Nebenwirkungen. Damit werden möglicherweise die Heilungsraten unter Bestrahlung verbessert.

Kritiker des Konzepts der prädiktiven Tests führen verschiedene Punkte gegen diese Argumentation an. Zum einen wird angezweifelt, dass eine methodisch einwandfreie Analyse auf allen Ebenen überhaupt möglich ist (Klinik, Therapie, Labor). Dabei wird die Schwachstelle sehr häufig in der Klinik gesehen, da sich Laborbedingungen leichter standardisieren lassen als die Patientenbehandlung mit allen menschlichen Einflussfaktoren. Zum anderen wird der Ansatz, dass eine Zelle als Stellvertreter für alle Endzellen des Organismus aussagekräftig sein soll, von manchen Forschern grundsätzlich abgelehnt als simplizistisch und unwahrscheinlich. Weiterhin wird kritisiert, dass die Komplexität des Zusammenhangs von früher und später Strahlenreaktion in diesen Ansätzen grundsätzlich unterschätzt wird.

Einige dieser Punkte können in dem vorliegenden Projekt wiederlegt werden. Durch maximale methodische Genauigkeit und prospektive Festlegung aller Eckpunkte, durch standardisierte Verfahren und hohe Konsistenz in der ärztlichen Betreuung sowie durch Ansiedlung des Projektes in der Klinik wurde eine bisher in dieser Weise nicht publizierte Qualität der Datenerhebung erreicht. Der Einwand, ob tatsächlich die Reaktion aller Gewebe eines Individuums durch die Reaktion eines nicht näher definierten Lymphozyten aus der Gesamtmenge aller möglichen Lymphozytenarten mit möglicherweise variierenden

Eigenschaften zu verschiedenen Zeitpunkten während einer Behandlung vorhersagbar ist, kann durch ein einzelnes Experiment nicht entkräftet werden. Allerdings muss man sagen, dass die Zahl der positiven Experimente insgesamt doch dafür spricht, dass der Lymphozyt des peripheren Blutes eine gewisse Disposition des Organismus zur Reaktion auf Bestrahlung wiederspiegelt (siehe auch Punkt 3).

Aufgrund der Erhebung an einem kleinen Patientenkollektiv ausschließlich in der Akutreaktion ist die direkte Übertragbarkeit nicht möglich. Zum einen wird von uns noch die Korrelation der Parameter mit der Inzidenz von späten Nebenwirkungen durchgeführt, wenn alle Patienten ausreichend lang nachbeobachtet wurden. Zum zweiten muss an einem größeren Patientenkollektiv die Blutabnahme vor Beginn der Bestrahlung erfolgen und die Werte dann erneut mit der klinischen Akut- und Spätreaktion verglichen werden. Wenn uns eine weitere Vereinfachung der Methodik gelingt, kann sich aus diesem Projekt durch weitere Forschungsarbeit ein Ansatz zum echten präradiotherapeutischen Screening entwickeln, der vor Beginn der Bestrahlung eine Beurteilung der Empfindlichkeit und damit eine Dosisanpassung nach oben und unten erlaubt.

3 Fortschritt an anderen Stellen während der Durchführung des Vorhabens

Während der Projektlaufzeit gab es Weiterentwicklungen bzw. Veröffentlichungen von anderen Arbeitsgruppen, die z.T. auch unsere Methoden betrafen. Weiterhin gab es einige herausragende Publikationen zum Thema, die hier zusammengestellt werden. Insbesondere zeigten sich Lymphozyten besser geeignet als Fibroblasten, was unsere Vorgehensweise nachträglich bestätigte (Borgmann et al 2002, Almodovar, 2002).

3.1 Dizentrische Chromosomen

In einer Publikation von Gershkevitz et al (2002) zeigte sich die Rate an dizentrischen Chromosomen im Frischblut deutlich niedriger als nach Teilkörperbestrahlung, wobei der Wert von Dosis und Bestrahlungsvolumen beeinflusst wird. In diesem Kollektiv kann eine Korrelation von bestrahltem Knochenmark und Zahl der dizentrischen Chromosomen aufgezeigt werden; eine Korrelation zur Normalgewebsreaktion findet sich nicht.

Andere betonen, dass die Rate an gemessenen Doppelstrangbrüchen (dsb) ein ausreichend guter Parameter für die gesamte Rate an Bruchereignissen ist (Guirado et al, 2003).

3.2 Andere Methoden zur Messung chromosomaler Defekte

Bei Analyse einer Gruppe von Patienten mit M. Hodgkin finden Kacher et al (2003) mit der konventionellen Chromosomenbruchanalyse eine Häufung gemischter chromosomaler Defekte gegenüber Normalprobanden, die nach Therapie mit Chemotherapie und Bestrahlung ansteigt und innerhalb von 6 Monaten nach Therapie wieder rückläufig ist, einzelne Veränderungen bleiben aber noch jahrelang nachweisbar.

Viele neuere Arbeiten befassen sich mit der genetischen Analyse mittels Microarray, die simultan eine Vielzahl von Genen und Gendefekten aufzeigen kann. In der Arbeitsgruppe von Andreassen et al (z.B. 2002) wurden sieben single nucleotice polymorphisms (SNP's) auf Kandidatengenen untersucht; zwischen diesen Mutationen und der klinischen Strahlenreaktion (Fibrose) findet sich eine gute Korrelation. Diese hervorragende Übersicht zeigt die Komplexität des Themas sehr deutlich auf. Basierend auf verschiedenen Datensätzen (u.a. Bentzen 1993 und 1991) postuliert diese Arbeitsgruppe, dass verschiedene Normalgewebe auf Bestrahlung nicht gleich reagieren. Dies ist im Widerspruch zu anderen Arbeiten zu sehen; hier besteht sicher noch weiterer Klärungsbedarf, zu dem diese Projektdaten einen Teil beitragen können.

3.3 Apoptosemessung

Crompton et al (2001) selektierten CD4 und CD8 positive Lymphozyten und konnten eine Altersabhängigkeit der Apoptoserate nachweisen, nicht jedoch einen wesentlichen Einfluss der klinischen Empfindlichkeit.

3.4 Publikationen zu Methodenkritik und Übersichtsarbeiten

Sehr systematisch zeigt das Editorial von Russel und Begg (2002) in der Zeitschrift Radiotherapy Oncology die verschiedenen methodischen Probleme der prädiktiven Tests auf. Dabei wird kein Parameter unberücksichtigt gelassen; neben den labortechnischen Aspekten (Temperatur, Substanzen, Konstanz der Protokolle über die Zeit) werden vor allem die klinischen Probleme (scoring, Einflussfaktoren, Strahlentherapie, Einheitlichkeit von Maßnahmen der Prophylaxe und Therapie der Nebenwirkungen) ausführlich beleuchtet. In einem Zwischenabsatz zur klinischen Seite wird formuliert, wie ein optimales Projekt zu prädiktiven Tests klinischerseits zu führen sei; erfreulicherweise werden in diesem Projekt alle diese Parameter adäquat berücksichtigt. Auch diese Arbeit schlussfolgert, dass im Microarray die Zukunft liegt, ohne diesen Anspruch in ausreichender Weise zu belegen. Auch laut Peters (2001) liegt die Zukunft des prädiktiven Assays in dem genetischen Profiling durch Microarray.

Eine weitere Arbeit argumentiert, dass verschiede Zellen eines Individuums die gleiche Strahlenempfindlichkeit hätten (Guirado et al, 2003), was im deutlichen Gegensatz zu anderen Arbeiten steht (Andreassen et al, 2003). Hier ist ein abschließendes Urteil noch nicht möglich.

Die Inzidenz von späten Nebenwirkungen und die Optimierung der diesbezüglichen Berichterstattung kommentieren Bentzen und Dische 2001 in Bezug auf Jung et al, 2001. Sie sehen die beste Methode in einer Kaplan-Meier-Inzidenzkurve, die sie der komplizierten Methode von Jung eindeutig vorziehen.

4 Erfolgte und geplante Veröffentlichung

Die Daten aus dem Projekt wurden mehrfach im Rahmen von größeren und kleineren Kongressen und strahlenbiologischen Treffen vorgestellt. Da der größte Teil der Patienten in der Endphase des Projektes eingeschlossen wurde, bezogen sich diese Veröffentlichungen meist auf die klinischen Daten, die an dem Gesamtkollektiv der gescreenten Patienten erhoben wurden und auf weitere Parameter, die eher im Umfeld des Projektes erfasst wurden. Die Daten nur der empfindlichen und der gematchten Patienten wurden erstmals (für 20 Paare) auf dem DEGRO-Kongress 2004 gezeigt. Die entsprechenden Literaturangaben finden sich in Anlage 5.

Geplant ist jetzt die detaillierte Publikation der Ergebnisse innerhalb des nächsten halben Jahres. Publiziert werden zum einen Vorarbeiten wie die Kontrolle der Hautdosis bei Bestrahlung der Brust mittels TLD bei 50 der ersten Patientinnen, die für das Projekt gescreent wurden; hierauf beruht ja die Einschätzung als Empfindlich bei den folgenden Patientinnen des Projekts. Es folgen die klinischen Analysen der Toxizität bei allen 540 gescreenten Patienten. Dazu gehört neben Einflussfaktoren für Nebenwirkungen auch die von uns entwickelte Methode zur Toxizitätsbewertung an der Schleimhaut mittels AUC (area under the curve). An einer Subgruppe von 187 Patienten wurde eine Analyse der MN-direkt Werte vor Beginn der Bestrahlung durchgeführt; diese Ergebnisse im Vergleich empfindliche vs. unempfindliche Patienten (ohne matching) werden ebenfalls publiziert. Das eigentliche Ergebnis der Studie, nämlich die Korrelation empfindlicher/gematchter Patienten bezüglich ihrer strahlenbiologischen Parameter, wird ebenfalls publiziert. Alle Publikationen sind in verschiedenen Stadien der Fertigstellung, geplant ist die Einreichung im laufenden Kalenderjahr.

Literaturangaben

1. Almodovar J, Guirado D, Nunez M, Lopez E, Guerrero R, Valenzuela M, Villalobos M, Moral R (2002) Individualisation of radiotherapy in breast cancer patients: possible usefuness ov a DNA damage assay to measure normal cell radiosensitivity. Radiother Oncol 62; 327-333
2. Andreassen C, Alsner J, Overgaard J (2002) Does variability in normal tissue reactions after radiotherapy have a genetic basis- where and how to look for it? Radiother and Oncol 64; 131-140
3. Barber JBP, Burill W, Spreadborough AR, Levine E, Warren C, Kiltie AE, Roberts SA, Scott D: Relationship between in vitro chromosomal radiosensitivity of peripheral blood lymphocytes and the expression of normal tissue damage following radiotherapy for breast cancer. Radiother Oncol 2000; 55; 179-86
4. Baumann M. Impact of endogenous and exogenous factors on radiation sequelae. In: Dunst J, Suaer R, Hrsg: Late sequelae in oncology. Medical radiology, diagnostic imaging and radiation oncology. Berlin-Heidelberg-New York, Springer Verlag, 1995
5. Bentzen SM. Potential clinical impact of normal-tissue intrinsic radiosensitivity testing. Radiotherapy and Oncology 1997/43; 121-131
6. Bentzen SM., Overgaard J. Patient-to-Patient Variability in the Expression of Radiation-Induced Normal Tissue Injury. Seminars in Radiation Oncology; 1994/4; 68-80
7. Bentzen SM., Overgaard M., Overgaard J., Clinical correlations between late normal tissue endpoints after radiotherapy: implications for predictive assays of radiosensitivity. Eur J Cancer 1993/29 (10); 1373-1376
8. Bentzen SM., Overgaard J., Relationship between early and late normal-tissue injury after postmastectomy radiotherapy. Radiother Oncol 1991; 20; 159-165
9. Bentzen SM, Dische S. Late morbidity: The damocles sword of radiotherapy? Radiother and Oncol 2001/61; 219-221
10. Böhmer RM. Flow Cytometric Cell Cycle Analysis Using the Ouencing of Hoechst 33258 Fluorescence by Bromodeoxyuridine Incorporation. Cell Tissue Kinet.; 1979/12; 101-110
11. Borgmann K, Röper B, El-Awady RA, Brackrock S, Bigalke M, Dörk T, Alberti W, Dikomey E, Dahm-Daphi J. Indicators of late normal tissue response after radiotherapy for head and neck cancer: fibroblasts, lymphocytes, genetics, DNA repair, and chromosome aberrations. Radiother and Oncol 2002/64; 141-152

12. Brock WA., Tucker SL., Gerara FB., Turesson I., Wilke J., Nyman J., Peters LJ. (1995) Fibroblast radiosensitivity versus acute and late normal skin responses in patients treated for breast cancer. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.; 32; 1371-1379
13. Budach W, Claßen J, Belka C et al. Clinical impact of predictive assays for acute and late radiation morbidity. Strahlenthera Onkol 1998; 174 Suppl. III; 20-24
14. Burnet NG., Nyman J., Turesson I., Wurm R., Yarnold JR., Peacock JH. (1994) The relationship between cellular radiation sensitivity and tissue response may provide the basis for individualising radiotherapy schedules. Radiother. Oncol.; 33; 228-238
15. Countryman PI., Heddle JA., Crawford E. (1977) The repair of X-ray induced chromosomal damage in trisomy 21 and normal diploid lymphocytes. Cancer Res.; 37; 52-58
16. Crompton NEA., Shi Y-Q., Emery GC., Wisser L., Blattmann H., Maier A., Li L., Schindler D., Ozsahin H., Ozsahin M., Sources of variation in patient response to radiation treatment. Int J Radiation Oncol Biol Phys 2001; 49/2: 547-554
17. Denham JW, Peters LJ, Johansen J, Poulsen M, Lamb DS, Hendley A, O'Brien PC, Spry NA, Penniment M, Krawitz H, Williamson S, Bear J, Tripcony L. Do acute mucosal reactions lead to consequential late reactions in patients with head and neck cancer? Radiother Oncol 1999/52; 157-64
18. Dikomey E, Borgmann K, Peacock J, Jung H. Why recent studies relating normal tissue response to individual radiosensitivity might have failed and how new studies should be performed. Int J Radiation Oncology Biol Phys 2003/56-4; 1194-1200
19. Dörr W, Hendry JH. Consequential late effects in normal tissues. Radiother Oncol 2001/61; 223-31
20. Dörr W, Riesenbeck D: Mundhöhle. In Dörr, Seegenschmiedt, Zimmermann (Hrsg): Nebenwirkungen in der Radioonkologie: klinisches Kompendium; München: Urban & Vogel, 2000
21. Dörr W. Radiobiological models of normal tissue reactions. Strahlenther Onkol 1998; 174 Suppl. III; 4-7
22. Dunst J., Neubauer S., Becker A., Gebhart E. Chromosomal In-Vitro Radiosensitivity of Lymphocytes in Radiotherapy Patients and AT-Homozygotes. Strahlenther Onkol; 1989/174; 510-516
23. Emami B, Lyman J, Brown MD, Coia L, Goitein M, Munzenrider JE, Shank MD, Solin LJ, Wesson MD. Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. Int J Radiat Onc Biol Phys 1991/21; 109-122

24. Fenech M. The in vitro micronucleus technique. Matat Res 2000/455; 81-95
25. Fertil
26. Geara FB, Peters LJ, Ang KK et al. Prospective comparison of in vitro normal cell rediosnsitivity and normal tissue reactions in radiotherapy patients. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1993; 27; 1173-1179
27. Gershkevitsh E, Hildebrandt G, Wolf U, Kamprad F, Realo E, Trott K-R (2002) Chromosomal aberration in peripheral lymphocytes and doses to the active bone marrow in radiotherapy of prostate cancer. Strahlentherapie und Onkologie 178; 36-42Gilberetz K.-P., Van Beuningen D., Rhein AP. (1998) Early changes in the cell cycle kinetics after ionizing irradiation below 1 Gy. Int. J. Radiat. Biol.; 73; 187-195
28. Gilligan D., Mort C., McMillan TJ., Peacock JH., Titley J., Ormerod MG. (1996) Application of a bromodeoxyuridine-Hoechst/ethidium bromide technique for the analysis of radiation-induced cell cycle delays in asynchronous cell populations. Int. J. Radiat. Biol.; 69; 2; 251-257
29. Greve B, Severin E, Hacker-Klom U, Göhde W. Micronuclei and cell cycle progression delay as parameter of individual radiosensitivity. 12. Zytometrie Symposium, Heidelberg, 21-23 Okt. 1999
30. Grötz KA. Zahnärztliche Betreuung von Patienten mit tumortherapeutischer Kopf-Hals-Bestrahlung. Gemeinsame wissenschaftliche Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (DGZMK) und der Deutschen Gesellschaft für Radioonkologie, medizinische Physik und Strahlenbiologie (DEGRO) in Abstimmung mit dem Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Zahnerhaltungskunde (DGZ). Dtsch Zahnärztl Z 57, 509 – 511 (2002) und Strahlenther Onkol 179, 275 – 278 (2003); http:\\www.dgzmk.de/set5.htm
31. Guirado D, Almodovar J (2003) Prediction of normal tissue response and individualization of doses in radiotherapy Physics in Med and Biol 48; 3213-3223
32. Herrmann Th, Baumann M: Klinische Strahlenbiologie. 3. Auflage. Gustav Fischer Verlag Jena Stuttgart Lübeck Ulm, 1997
33. Hoeller U, Tribius S, Kuhlmey A, Grader K, Gehlauer F, Alberti W. Increasing the rate of late toxicity by changing the score? A comparison of RTOG/EORTC and LENT/SOMA scores. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2003/55(4), 1013 – 18
34. Holthusen H: Erfahrungen über die Verträglichkeitsgrenze von Röntgenstrahlen und deren Nutzanwendung. Strahlentherapie 1936/57; 254-269
35. Huber R, Braselmann H, Kulka U, Schumacher-Georgiadou V, Bayerl A, Molls M, Bauchinger M. Follow-up analysis of translocation and dicentric frequencies, measured

by FISH-chromosome painting in breast cancer patients after partial-body radiotherapy with little bone marrow exposure. Mut Research 1999/446; 103-109

36. Jones LA, Scott D, Cowan R, Roberts SA : Abnormal radiosensitivity of lymphocytes from breast cancer patients with excessive normal tissue damage after radiotherapy: chromosome aberrations after low dose-rate irradiation. Int J Radiat Biol 1995; 67/5; 519-28
37. Jung H, Beck-Bornholdt HP, Svoboda V, Alberti W, Herrmann T (2001) Quantification of late complications after radiation therapy. Radiother and Oncol 61; 233-246
38. Kanda R, Hayata I: Effect of estradiol on radiation-induced chromosome aberrations in human lymphocytes. J Radiat Res 1999; 40; 95-100
39. Kubbies M., Rabinovitch PS. (1983) Flow Cytometric Analysis of Factors Which Influence the BrdUrd-Hoechst Quenching Effect in Cultivated Human Fibroblasts and Lymphocytes. Cytometry.; 3; 276-281
40. Latt SA., George YS., Gray JW. Flow cytometric analysis of bromodeoxyuridine-substituted cells stained with 33258 Hoechst. J Histochem Cytochem.; 1977/25; 927-934
41. Latt SA., Wohlleb JC. Optical studies of the interaction of 33258 Hoechst with DNA, chromatin, and metaphase chromosomes. 1: Chromosoma 1975/52; 297-316
42. Latt SA. Microfluometric detection of desoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosomes. Proc. Natl. Acad. Sci USA; 1973/70; 3395-3399
43. Mackay RI, Hendry JH. The modelled benefit of individualizing radiotherapy patients dose using cellular radiosensitivity assays with inherent variability. Radiother Oncol 1999/50; 67-75
44. McMillan TJ, Steel GG. DNA damage and cell killing. In: GG Steel (ed) Basic clinical radiobiology, 3rd edition 2002, Arnold (London)
45. M´Kacher R, Girinsky T, Koscielny S, Dossou J, Violot D, Beron-Gaillard N, Ribrag V, Bourhis J, Bernheim A, Parmentier C, Carde P. Baseline and Treatment-induced chromosomal abnormalities in peripheral blood lymphocytes of hodgkin´s lymohoma patients. Int J Radiation Oncology Biol Phys 2003/57/2; 321-326
46. Nüsse M., Miller BM., Viaggi S., Grawe J. (1996) Analysis of the DNA content distribution of micronulei using flow sorting and fluorescent in situ hybridization with a centromeric DNA probe. Mutagenesis.; 11; 405-413
47. Omerod MG., Kubbies M. (1992) Cell cycle analysis of asynchronous cell populations by flow cytometry using bromodeoxyuridine label and Hoechst-propidium iodide stain. Cytometry.; 13; 678-685

48. Pelc SR, Howard A. Techniques of autoradiography and the application of the stripping-film method to problems of nuclear metabolism. Br Med Bull 1952/8; 132-35
49. Peter Y., Rotman G., Lotem J., Elson A., Shiloh Y., Groner Y., Elevated Cu/Zn-SOD exacerbates radiation sensitivity and hematopoetic abnormalities of Atm-deficient mice. The EMBO Journal 2001; 20/7: 1538-1546
50. Peters LJ., Ang KK., Thames HD. Jr. Accelerated fractionation in the radiation treatment of head and neck cancer. A critical comparison of different stratigies. Acta Oncol. 1989/27; 185-194
51. Rached E., Schindler R., Beer KT., Vetterli D., Greiner RH. No Predictive Value of the Micronucleus Assay for Patients with Severe Acute Reaction of Normal Tissue After Radiotherapy. European Journal of Cancer, 1998/34; 378-383
52. Rabinovitch PS., Kubbies M., Chen YC., Schindler D., Hoehn H., (1988) BrdU-Hoechst flow cytometry: a unique tool for quantitative cell cycle analysis. Exp Cell Res.; 174; 309-318
53. Ramsay J, Birrell G. Normal tissue radiosensitivity in breast cancer patients. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1995; 31; 339-344
54. Riesenbeck D, Dörr W, Feyerabend T,. Fietkau R, Henne K, Richter E,. Schendera A. Photographic documentation of acute radiation-induced side effects of the oral mucosa. Strahlenther Onkol 1998; 174 Suppl. III; 40-43
55. Riesenbeck D, Dörr W. Documentation of Radiation-Induced oral mucositis. Scoring systems. Strahlenther Onkol 1998, 174 Suppl III, 44-46
56. Riesenbeck D, Greve B, Hacker-Klom U, Severin E, Göhde W, Willich N. Prediction of individual radiosensitivity by combination of Micronuclei induction, cell cycle progression delay, Apoptosis and antioxydative capacity. Internat. Symposium Normal tissue reactions in Radiotherapy and Oncology, Marburg, 14-15 April 2000
57. Riesenbeck D, W. Dörr: Reaktion der Mundschleimhaut auf Bestrahlung: Inzidenz – Dokumentation – Prophylaxe und Therapie. Focus Onkologie 4/2001
58. Rogers PB, Plowman PNB, Harris SJ, Arlett CF (2000) Four radiation hypersensitivity cases and their implication for clinical radiotherapy. Radiother Oncol 57; 143-54
59. Rothfuß A., Schütz P., Bochum S., Volm T., Eberhardt E., Kreienberg R., Vogel W., Speit G. (2000) Induced Micronucleus Frequencies in Peripheral Lymphocytes as a Screening Test for Carriers of a BRCA1 Mutation in Breast Cancer Families. Cancer Res.; 60; 390-394
60. Russell NS, Begg AC. Editorial radiotherapy and oncology 2002: predictive assays for normal tissue damage. Radiotherapy and Oncology 2002; 64: 125-129

61. Schreiber GA., Beisker W., Braselmann H., Bauchinger M., Bögl KW., Nüsse M. (1992) An automated flow cytometric micronucleus assay for human lymphocytes. Int. J. Radiat. Biol.; 62; 6; 695-709

62. Scott D. Chromosomal radiosensitivity, Cancer predisposition and pesponse to radiotherapy. Strahlenther Onkol 2000/175; 229-234

63. Seegenschmiedt MH. Nebenwirkungen in der Onkologie. Internationale Systematik und Dokumentation. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1998

64. Severin E. Photometric determination of the antioxidative capacity of serum by means of p-Benzoquinone. Clin. Lab. 1998; 44 ; 15-22

65. Slonina D, Klimek M, Szpytma T, Gasinska A (2000) Comparison of the radiosensitivity of normal-tissue cells with normal-tissue reaction after radiotherapy. Int J Radiat Biol 76/9; 1255-64

66. Therman E: Human Chromosomes. Structure, Behavior, Effects. Springer Verlag, New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo; 1986 Scd. Ed.

67. Torous DK., Hall NE., Murante FG., Gleason SE., Tometsko CR., Dertinger SD (2003) Comparative Scoring of Micronukleated Reticulocytes in Rat Peripheral Blood by Flow Cytometry and Microscopy. Toxicol Sci.; 74 (2); 309-314

68. Tucker SL, Geara FB, Peters LJ, Brock WA: How much could the radiotherapy dose be altered for individual patients based on a predictive assay of normal –tissue radiosensitivity? Radiother Oncol 1996; 38; 103-113

69. Turesson I. Current status of predictive assays. Internat. Symposium Normal tissue reactions in Radiotherapy and Oncology, Marburg, 14-15 April 2000

70. Weinert TA., Hartwell LH. (1990) Characterization of RAD9 of Saccharomyces cerevisiae and evidence that its function acts posttranslationally in cell cycle arrest after DNA damage. Mol Cell Biol.; 10; 6554-6564

71. Weinert TA. (1992) Dual cell cycle checkpoints sensitive to chromosome replication and DNA damage in the budding yeast Saccharomyces cerevisiae. Radiat Res.; 132; 141-143

72. West CML., Elyan SAG., Berry P., Cowan R., Scott D. A comparison of the radiosensitivity of lymphozytes from normal donors, cancer patients, individuals with ataxia-telangiectasia (A-T) and A-T heterozygotes. Radiat. Biol. 1995/68; 197-203

73. Zimmermann JS, Budach W, Müller RG. Strahlentoleranz der Normalgewebe – individuelle Varianz und Vorhersage. In Dörr, Seegenschmiedt, Zimmermann (Hrsg): Nebenwirkungen in der Radioonkologie: klinisches Kompendium; München: Urban & Vogel, 2000

Teil III Erfolgskontrollbericht

1. Beitrag zu den förderpolitischen Zielen des Förderschwerpunkts

In dem begrenzten Kollektiv von 30 empfindlichen und 30 gematchten Patienten konnte eine Korrelation einiger von uns bestimmter Parameter festgestellt werden. Dies ist in Übereinstimmung mit den Publikationen anderer Arbeitsgruppen und bestätigt den Ansatz, prädiktive Testverfahren im Bereich der Chromosomenanalyse zu suchen. Für Folgeprojekte innerhalb des Schwerpunktes werden somit wichtige Weichen gestellt.

Aufgrund der Ausschreibung war dieses Projekt nicht als screening unbestrahlter Patienten angelegt und hat daher für die Prädiktion auch nur einen begrenzten Stellenwert. Wir haben gezeigt, dass bei dieser Art der Patientenrekrutierung Korrelationen gefunden werden. Ob aber diese Korrelation auch für Spätreaktionen gilt, ob sie auf andere Gewebe übertragbar sind und ob sie sich an einem größeren, unselektierten Patientengut bestätigen lassen, bleibt als Frage für kommende Studien offen.

Die Primärdaten des Projektes wurden dem BfS zur Verfügung gestellt.

2. Fortschreibung des Verwertungsplanes

Die vorgelegten Ergebnisse werden zu weitergehender Forschung genutzt. Ein kommerzieller Nutzen oder eine Patentanmeldung ist nicht zu erwarten, da keine neuen Geräte oder Verfahren entwickelt wurden. Vorgesehen sind zunächst weitere Datenanalysen mit der Frage, ob für Folgeuntersuchungen der Aufwand reduziert werden kann (z.B. Auszählung von 50 statt 200 Zellen). Es soll versucht werden, diese Analyse dann kostengünstiger in einer Abteilung des Zentrums für Strahlenmedizin zu integrieren statt durch die Vergabe an das Institut für Humangenetik weiter hohe Kosten zu haben. Wenn dies möglich ist, soll an einem größeren Patientenkollektiv die Blutabnahme vor Beginn der Bestrahlung erfolgen und die Ergebnisse im unsortierten Kollektiv mit der vorhergesagten Empfindlichkeit korreliert werden. Hierzu wird sicherlich ein Folgeantrag notwendig sein, der möglicherweise dann an die Krebshilfe bzw. die DFG gestellt werden soll, was jedoch in Absprache mit dem BfS geschehen wird.

3. Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben

Solche waren in dem Projekt nicht zu verzeichnen.

4. Präsentationsmöglichkeit für mögliche Nutzer

Durch die Präsentation auf wissenschaftlichen Kongressen und die Publikation in der Fachliteratur werden die Ergebnisse in weiten Kreisen bekannt gemacht. Arbeitsgruppen mit ähnlichen Ansätzen werden sicherlich auf diese Ergebnisse Bezug nehmen. Innerhalb des Forschungsschwerpunktes findet auf der Ebene des BfS ein wissenschaftlicher Austausch statt. Erste Gespräche dazu haben bereits stattgefunden; es bestehen Überlegungen, die empfindlichen Patienten aus allen Projekten mit den Methoden der jeweils anderen Projekte zu untersuchen.

5. Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung

Wie aus dem Verwertungsplan hervorgeht, wurde die ursprüngliche Ausgabenplanung eingehalten. Nachdem zunächst kein Personal eingestellt werden konnte wurde hier eine deutliche Einsparung erreicht. Die Zahl der empfindlichen und auch gematchten Patienten wurde zum ursprünglich geplanten Projekt-Ende nicht erreicht. Daher wurde eine kostenneutrale Verlängerung um 4 Monate auf Antrag bewilligt. Zum Abschluss des Projektes war die volle Zahl geplanter Patienten erreicht und die vorgegebene Statistik durchgeführt sowie einige darüber hinausgehende Berechnungen und Daten ausgewertet.

Anlage 1: Erhebungsbogen für Basisdaten

Dokumentationsbogen

Basisdaten der Patienten im Projekt „Multiparametrische Untersuchungen an Strahlentherapiepatienten mit auffälligen Strahlenreaktionen“

	_____	
Name, Vorname, Geburtsdatum	Einschlussdatum	Gruppe
		Geschlecht

Studieneinschluss
Bei einer Gesamtherddosis von _____Gy (Details s.u.)

Allgemeinbefund

Karnofsky	%	Metallimpl.		Keine Restzähne	
Gewicht Beginn	kg	Zustand		Restzähne (gut)	
Gewicht Ende	kg	Grösse	cm	Restzähne (schlecht)	

Begleiterkrankungen

Diabetes		Hauterkrankung, welche		Neurologisch	
Hypertonus		Blutkrankheiten, welche		Lymphödem	

Freitext

Hormonstatus Östriol _____Östradiol_____ Progesteron _____Testosteron_____

Persönliche Situation (wie im Gespräch dargestellt)

Befindlichkeit	stabil	etwas eingeschränkt	stark eingeschränkt	instabil
Beziehungssituation	stabil	gering problematisch	deutlich problemat.	Extrem probl.

Tumordaten
Lokalisation

Lymphknoten (CUP)		Speicheldrüsen	
Lippe		Kieferhöhlen	
Mundhöhle		Stirnhöhlen	
Nasopharynx		Kehlkopf	
Oropharynx		Nasenhaupthöhle	
Hypopharynx		Mundboden	
Mamma rechts		Mamma links	

Tumorstadium und Differenzierung

T		N		M		G	

Histologie

PEC		AdenoCa		andere	
Lymphom		Malignität			
Inv. ductal		Inv. lobulär		andere	

Operation

Datum	R0		Nur PE			
	R1		Neck diss. ipsilateral		HGS ipsi	
	R2		Neck diss. kontralateral		HGS kontra	
	BET		Ablatio		LNE	

OP-Erweiterung

Plastische Deckung		Andere		Keine Ang.	
Metallimplantat		Welche			

Kofaktoren **für Nebenwirkungen**
Exogene Noxen

Nikotin	nein	früher	aktuell	< 1 Pk/d	>1 Pk/d
Alkohol	nein	oft	Selten	Bier	Schnaps
Pflege während RT			Pflege nach RT		
Zusatzangaben	Pflege professionell ja/nein				
Transfusionen		Wachstumsfaktoren			

Medikamente (bitte getrennt abfragen!)

Gruppe	*Medikament*	*Medikament*
Herz/kreislauf (auch Diuretika)		
Hormone		
Vitamine/Phytopharmaka		
Schmerz		
Lunge		
andere		

Strahlentherapie

Konzept

adjuvant		primär kurativ		primär palliativ	
Chemotherapie	ohne	simultan	sequentiell	mit Tamoxifen	
Cisplatin	CMF	EC	Taxol	andere	

Behandlungsschema

Einzeldosis	Gy	Wochendosis	Gy	Fraktionierungs-
Fraktionen / Woche		Gepl. Pausen		wechsel
Zielvolumen 1. Ord.	Gy	Zielvolumen 2. Ord.	Gy	
Studieneinschlussdosis		Gy		

Technik (Kopf-Hals-Bestrahlung)

Nur Kobalt/e-		Feldteilung bei	Gy	Wendt	
Kobalt / 6 MV gem.		Boost für	Gy	Concoboost	
Nur 6 MV		Tischwinkeltechnik		Adjuvant	
Anschluß Kobalt		Mundkeil		Boost	

Technik (Bestrahlung bei Mamma-Carcinom)

Kobalt allein		6 MV allein		15 MV allein	
Kobalt / 15 MV gem.		6 /15 MV gemischt			
SIAx Kobalt		Dosiert auf ICRU		Boost	
SIAx 6 MV		Dosiert auf 90%			

Hautdosis (bei Brustbestrahlung)

nach TLD	Axilla	medial	Mammille	lateral	cranial	caudal
Einzeld. 6MV	Gy	Gy	Gy	Gy	Gy	Gy
Einzeld.15MV	Gy	Gy	Gy	Gy	Gy	Gy
Gesamtdosis	Gy	Gy	Gy	Gy	Gy	Gy

Einschluss von Risikoorganen

1. Oberlippe		8. Zungengrund	
2. Unterlippe		9. Mundboden rechts	
3. rechte Wange		10. Mundboden links	
4. linke Wange		11. weicher Gaumen rechts	
5. Zunge rechts lateral/ventral		12. weicher Gaumen links	
6. Zunge links lateral/ventral		13. harter Gaumen rechts	
7. Zungenoberfläche		14. harter Gaumen links	
Haut re. Ohr		Haut Gesicht	
Haut li. Ohr		Haut Hals	

Anlage 2: Dokumentation der Akutoxizität:

TOXIZITÄTSDOKUMENTATION KOPF/HALS/MAMMA							Etikett			
	d 1	d 4	d 8	d 11	d 15	d 18	d 22	d 25	**d 29**	d 32
Allgemeinzustand										
Speicheldrüsen										
Pharynx/Ösoph.										
Ernährung										
Übelkeit/Erbrechen										
Larynx										
ZNS										
Auge										
Ohr										
Lymphödem										
Diarrhoe										
Lunge										
Herz										
Fatigue										
Schmerzen										
Gewicht										
Geschmack										
Pause wg. NW										
Stationär wg. NW										
Datum										
Handzeichen Arzt										

	d 36	d 39	d 43	d 46	d 50	d 53	d 57	d 61	d 68	**letzte**
Allgemeinzustand										
Speicheldrüsen										
Pharynx/Ösoph.										
Ernährung										
Übelkeit/Erbrechen										
Larynx										
ZNS										
Auge										
Ohr										
Lymphödem										
Diarrhoe										
Lunge										
Herz										
Fatigue										
Schmerzen										
Gewicht										
Geschmack										
Pause wg. NW										
Stationär wg. NW										
Handzeichen										
Arzt										

TOXIZITÄTSDOKUMENTATION KOPF/HALS/MAMMA
Bogen 2: Haut und Schleimhaut

	d 1	d 4	d 8	d 11	d 15	d 18	d 22	d 25	**d 29**	d 32
Oberlippe										
Unterlippe										
rechte Wange										
linke Wange										
Zunge re lateral/ventral										
Zunge li lateral/ventral										
Zungenoberfläche										
Zungengrund										
Rachen										
Mundboden rechts										
Mundboden links										
weicher Gaumen rechts										
weicher Gaumen links										
harter Gaumen rechts										
harter Gaumen links										
Haut Hals										
Haut Gesicht										
Haut Ohren										
Haut submammär										
Haut über Clavikel										
Haut Brust										
Haut Axilla										
Bestrahlte Dosis	**0**									
Datum										
Handzeichen Arzt										

	d 36	d 39	d 43	d 46	d 50	d 53	d 57	d 61	d 68	**letzte**
Oberlippe										
Unterlippe										
rechte Wange										
linke Wange										
Zunge re lateral/ventral										
Zunge li lateral/ventral										
Zungenoberfläche										
Zungengrund										
Rachen										
Mundboden rechts										
Mundboden links										
weicher Gaumen rechts										
weicher Gaumen links										
harter Gaumen rechts										
harter Gaumen links										
Haut Hals										
Haut Gesicht										
Haut Ohren										
Haut submammär										
Haut über Clavikel										
Haut Brust										
Haut Axilla										
Bestrahlte Dosis (HD)										
Datum										
Handzeichen Arzt										

DEFINITIONEN TOXIZITÄT KOPF/HALS/ZNS

Etikett

→ **Organsysteme:** Mund, Nase, Pharynx, Larynx, Augen, Ohren, Hirn

Allgemeinzustand *WHO*	**0** volle körperliche Leistungsfähigkeit	**1** geringe körperl. Beeinträchtigung, leichte Müdigkeit	**2** mäßige Beeintr., starke Müdigkeit, Selbstvers.	**3** starke Beeintr., zeitweise bettlägerig, benötigt Hilfe	**4** massive Beeintr., ständig bettlägerig, Krankenhaus
Karnofsky	100	80–90	60–70	40–50	< 40
Haut *EORTC RTOG*	**0** unauff.	**1** leichtes Erythem, Epilation, trockene Desquamation	**2** deutliches Erythem, einz. feuchte Epithe-liolysen (< 50 %) , mäßiges Ödem	**3** konfluierende feuchte Epitheliolysen (> 50 %), ausg. Ödem	**4** ausgedehnte Ulzeration, konfl. Nekrose, massive Blutungen
Schleimhaut *EORTC RTOG*	**0** unauff.	**1** leichtes Enanthem, geringe Schmerzen	**2** fleckf. Mucositis, mäßiges Ödem, mäßige Schmerzen	**3** konfl. fibrinöse Mucositis, massives Ödem/ Schmerzen	**4** ausg. Ulzeration, konfl. Nekrose, massive Blutungen
Speicheldrüsen *EORTC RTOG*	**0** keine Nebenw.	**1** leichte Mundtrockenheit/ Geschmacksveränd.	**2** deutl. Mundtrockenheit/ Geschmacksveränd., Flüssigkeit b. Essen	**3** komplette Mundtrockenheit/ Geschmacksverlust	**4** akute Nekrose/ komplette Fibrose der Speicheldrüsen
Pharynx/ Ösophagus *EORTC RTOG*	**0** keine Nebenw.	**1** leichte Dysphagie/ Odynophagie	**2** deutliche Dysphagie/ Odynophagie	**3** schw. Dys-/ Odynophagie, Gewicht↓>15 %	**4** kompl. Obstruktion, großfl. Ulzeration, Perforation, Fistel
Ernährung *EORTC/RTOG CTC*	**0** normal	**1** normale Nahrungsaufnahme möglich, Gewichtsverlust < 5%	**2** Nahrungaufnahme vermindert, Gewichtsverlust <= 15%	**3** keine orale Nahrungsaufn., Gewverlust > 15%, i.v.-Ernährung nötig	**4** –
Übelkeit/ Erbrechen *CTC/EORTC/RTOG*	**0** keine	**1** geringe Übelkeit, Erbrechen bis 1 x /d keine Antiemetika	**2** mäßige Übelkeit, Erbrechen 2 – 5 x/d, Antiemetika nötig	**3** starke Übelkeit, Erbrechen 6–10 x / Tag, trotz Antiemese	**4** Ileus, Perforation; Fisteln, transf-pfl. Blutungen
Larynx *EORTC RTOG*	**0** keine Nebenw.	**1** leichte Heiserkeit/ Reizhusten, Enanthem	**2** Heiserkeit/ Reizhusten, leichte Halsschm., blutige Beläge, Chondritis, Ödem	**3** massive Heiserkeit ("Flüstersprache"), starke Schmerzen, konfl. Fibrinbeläge, massives Ödem	**4** ausgeprägte Dyspnoe, Stridor, Hämoptysen
ZNS *EORTC RTOG*	**0** keine Nebenw.	**1** geringe neurol. Ausfälle	**2** mäßige neurol. Ausfälle, kurzfristige Hilfe erforderlich	**3** ausgepr. neurol. Ausfälle, kurzfristige Hospitalisierung	**4** therapierefraktäre Ausfälle, Paralyse, Koma, Epilepsie
Geschmack *(eig. Score)*	**0** keine Geschm-V.	**1** geringe Geschm.-veränderung	**2** deutl. Geschm.-änderung	**3** Vollständiger Geschm-Verlust	
Auge *EORTC RTOG*	**0** keine Nebenw.	**1** leichte Konjunktivitis, verstärktes Tränen	**2** Konjunktivitis, Iritis, Photophobie, trock. Auge,. Visus ↓	**3** schwere Keratitis, Ulzeration, Glaukom, Panophthalmitis	**4** vollständige Erblindung auf betroffenem Auge
Ohr *EORTC RTOG*	**0** keine Nebenw.	**1** leichte Otitis externa, Audiogramm o.B.	**2** deutliche Otitis externa et media, asympt. Hypakusis	**3** mass. Otitis ext./ media, Tinnitus, sympt. Hypakusis	**4** vollständige Taubheit
Lymphödem *eig. Score*	**0** keines	**1** leicht; keine Beschwerden, keine Therapie	**2** mäßig; geringe Beschwerden; Ther.: z.B. Venoruton	**3** stark; Schmerzen, Obstruktion; Ther.: Cortison nötig	**4** massives Lymphödem, Exsudation, starke Schmerzen
Diarrhoe *EORTC/RTOG CTC*	**0** keine	**1** gering vermehrt (2–3 Stühle/Tag) oder Änderung der Stuhlqualität	**2** vermehrt (4–6 Stühle/d)/ nächtl. Stühle / Krämpfe, Parasympatholytika	**3** stark vermehrt (7–9 Stühle/d) /. Inkontinenz / schw. Krämpfe, Infusionstherapie	**4** (sub)akute Darm-obstruktion; Ileus, Perforation; Fisteln, transf-pfl. Blutungen
Lunge *EORTC RTOG WHO*	**0** unauff.	**1** leichter/ intermitt. Reizhusten; leichte Belastungsdyspnoe; Vitalkapazität < 75 %	**2** deutlicher/ persist. Reizhusten; deutliche Belastungsdyspnoe; VK < 50 %	**3** therapieresist. Reizhusten; Ruhedyspnoe; klin./radiol. Zeichen d. Pneumonitis; intermitt. O_2	**4** persistierende schwere respiratorische Insuffizienz; assistierte Atmung, kontinuierliche O_2-Gabe
Herz *EORTC RTOG WHO NCI / AIO*	**0** unauff.	**1** flüchtige Rhythmusstörung, EF↓ um < 20%; unspez. T-Abflachung; asymptom. Perikarditis	**2** wiederk./ persist. Rhythmusst., Reiben Brustschm; Funktionsstörung; asympt. Ischämie, EKG-Verä.	**3** Perikarderguß (Punktion) A.p. ohne Infark Rhythmusst., geringe Herzinsuff./ Ischämiesympt.,	**4** Kammertachykardie/ -flimmern; ausgepr. Ischämiesympt., akuter HI; Herzbeuteltamponade , chir. Therapie
Fatigue	**0** keine Müdigkeit.	**1** leichte Müdigkeit	**2** deutliche Müdigkeit	**3** ausgepr. Müdigkeitselbstversorgend	**4** schwere Müdigkeit und Antriebslosigkeit, überw. bettlägerig
Schmerzen	**0** keine Schmerzen	**1** geringe Schmerzen keine Therapie	**2** deutl. Schmerzen, nicht-zentrale Med.	**3** massive Schmerzen, zentrale Analg.	**4** hochdos. zentrale Analg., Sedierung

THERAPIEDOKUMENTATION
KOPF/HALS/Mamma

Etikett

SUBSTANZEN ↓	Beginn	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5	Woche 6	Woche 7
Aktivpuder* [3 x pro d]								
Panthenol Salbe/Lotio								
Jellin polyvalent								
Actihaemyl-Salbe								
Mepilex								
Mepithel/Oleotüll								
Salbeitee* [2 Btl./1 l Wasser, 6 x pro d]								
Panthenollösung* [1:1 verdünnt, 6 x pro d]								
Anästhesin Lutschtabl. [b. Bedarf]								
Xylocain viscös 2 % [v.d. Mahlzeiten + bei Bedarf]								
Tepilta Susp. [v.d. Mahlzeiten + bei Bedarf]								
Novalgin/Tramal bis 6x40°								
Morphine mit Dosis wenn mgl.								
Amphotericin B Susp. *[Ampho-Moronal ®]*[1 Pip., 3x d]								
Fluconazol Kaps. *[Diflucan®]* 1 x 50 mg (Standard) →								
Andere Dosis (bitte eintragen)→								
Fluconazol Saft *[Diflucan®]* 1 x 10 ml (= 50 mg) →								
Andere Dosis (bitte eintragen)→								
Venoruton Kaps. [3 x 2 Kaps.]								
Prednisolon *[Decortin H®]* 3 x 20 mg (Standard) → **+ Pepdul 1 x 1 Tabl.!**								
Dexamethason *[Fortecortin®]* Dosis (bitte eintragen) →								
Antibiotikum #1 Dosis → Name:								
Antibiotikum #2 Dosis → Name:								
Antiemese Gastrosil (3x20 Trp.)								
Zofran (4mg/8mg)								
MASSNAHMEN ↓								
– Bestrahlungspause –								
– Fachärztliches Konsil 1 an:								
– Fachärztliches Konsil 2 an:								
Flüssigkost (Meritene/Fresorbin)								
nasogastrale Sonde								
PEG								
parenterale Flüssigkeit/E'lyte								
parenterale Ernährung								
WEITERE ↓								
Datum:								
Behand. Arzt:								

- = Empfehlungen zur **Prophylaxe**

Anlage 3: Einwilligungsbogen

Merkblatt zum Aufklärungsgespräch über die Blutentnahme zur Bestimmung der individuellen Strahlenempfindlichkeit

Patientenetikett

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

Bei Ihnen ist eine Strahlentherapie vorgesehen bzw. wurde bereits begonnen. Sie wurden bereits darüber informiert, daß es im Rahmen der Bestrahlung zu Nebenwirkungen kommen kann. Es ist aus klinischer Erfahrung bekannt, daß diese Nebenwirkungen bei den meisten Menschen eine geringere bis mittlere Schwere haben, bei manchen Menschen (5-10%) jedoch eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber ionisierender Strahlung (die wir bei Ihnen anwenden) besteht, sodass in diesen Fällen die Nebenwirkungen früher oder stärker als gewöhnlich auftreten.
Ziel der Untersuchung ist herauszufinden, ob es eine Möglichkeit gibt, diese erhöhte Empfindlichkeit schon vor Beginn der Behandlung zu bestimmen. Für zukünftige Patienten könnte das bedeuten, daß bestimmte Maßnahmen früher oder anders durchgeführt werden als das nach heutigem Wissenstand der Fall ist. Dazu werden wir Ihnen **entweder bei Auftreten einer besonders frühen oder starken Nebenwirkung oder zum Zeitpunkt einer bestimmten Bestrahlungsdosis zusätzlich Blut abnehmen**. Außerdem werden Ihre Daten (Erkrankungen, Medikamenteneinnahme, Bestrahlungsdaten und bei Ihnen auftretende Nebenwirkungen) gespeichert und mit den Ergebnissen der Blutuntersuchung (strahlenbiologische Untersuchungen und bestimmte Chromosomenveränderungen nach Bestrahlung der Blutprobe) in Zusammenhang gebracht. Diese Datenerfassung und Auswertung erfolgt nach den Datenschutzrichtlinien und gewährleistet Ihre Anonymität. Die ärztliche Schweigepflicht bleibt gewahrt. In der Regel werden die Ergebnisse der Blutuntersuchung nicht mitgeteilt; sollten sich jedoch bedeutsame Auffälligkeiten zeigen, werden Sie darüber informiert.
Ihre Therapie und Betreuung ist unabhängig von Ihrer Einwilligung zur Blutentnahme und Datenspeicherung. Sie können jedoch mit Ihrem Einverständnis dazu beitragen, daß wir in der Zukunft Patienten besser bezüglich der Strahlentherapienebenwirkungen beraten und betreuen können. Sollten Sie etwas nicht verstanden haben oder weitere Informationen wünschen, stehen wir Ihnen gerne beratend zur Verfügung. Falls Sie nicht einverstanden sind, ergibt sich daraus für Sie selbstverständlich kein Nachteil.

Einverständnis

Ich gebe zu der Blutentnahme und der Erfassung meiner Daten zur Auswertung im Rahmen dieser Untersuchung unter Berücksichtigung der Vorschriften zum Datenschutz meine Einwilligung. Mir ist bekannt, daß ich diese jederzeit ohne Nachteile für mich widerrufen kann.

_____	_____	_____
Datum	Unterschrift Patient	Unterschrift Arzt

Anlage 4: Pflegehinweise (getrennt nach Tumorentitäten)

PATIENTENINFORMATION KOPF/HALS/ZNS

Liebe Patientin, lieber Patient!
Der Arzt in der Ambulanz hat Sie bereits ausführlich über die besonderen Pflegemaßnahmen während der Strahlenbehandlung informiert. Zur Erinnerung haben wie für Sie die wichtigsten Hinweise zusätzlich noch einmal in schriftlicher Form zusammengestellt:

Hautpflege

– Die Haut im Bestrahlungsfeld dürfen Sie (z.B. beim Duschen) vorsichtig *mit lauwarmem Wasser benetzen*. Keine Seife, kein Duschgel etc.! Beim Abtrocknen nicht rubbeln! Evtl. mit einem Fön trocknen
– Sie bekommen von uns **Puder** verschrieben. Damit sollten Sie die bestrahlten Hautbereiche 3 x pro Tag *einpudern*.
- Wenn offene oder verkrustete Stellen auftreten, in diesem Bereich nicht mehr Pudern und unbedingt mit Ihrem Arzt am Bestrahlungsgerät sprechen! Keine eigenen Cremes oder Salben verwenden.
– Andere Substanzen, wie Salben, Cremes, Gele, Deodorants usw. sollten Sie innerhalb der bestrahlten Region nicht verwenden. Im Zweifel fragen Sie Ihren Arzt am Bestrahlungsgerät!
- weite, weiche Kleidung ist empfehlenswert. Sonneneinstrahlung meiden. Trockenrasur wird empfohlen

Mund- und Schleimhautpflege

– **auf Nikotin und Alkohol verzichten**
Alkohol und Nikotin reizen die Schleimhäute im Mund- und Rachenbereich, die unter Bestrahlung empfindlicher sind als sonst. Es gibt des weiteren Hinweise, daß Rauchen die Wirkung der Strahlentherapie beeinträchtigt. Das bedeutet: Rauchen in der Strahlentherapiezeit verstärkt die Nebenwirkungen und verschlechtert die Wirkung der Behandlung
– **Auswahl geeigneter Speisen**:
Saure Speisen (z.B. Salat mit Essig, Früchte, Fruchtsäfte) vermeiden
Scharfe und stark gewürzte Speisen vermeiden
Zu heiße und zu kalte Speisen vermeiden
also: weiche, milde Speisen, viel trinken, eher lauwarm als heiß essen; außem dem genannten alles, was Ihnen gut schmeckt!
→ WICHTIG: Ausreichende und ausgewogene Ernährung! 1–2 x pro Woche Gewicht kontrollieren
Haben Sie Fragen zur Ernährung oder Schwierigkeiten beim Essen? Sprechen Sie uns darauf an!

– **Mundspülungen**:
Salbeitee, 2 Btl. auf 1 Liter Wasser (so oft wie möglich, mindestens 6 x täglich)
Bepanthenlösung, 1:1 verdünnt (so oft wie möglich, mindestens 6 x täglich)

Zahnpflege

– Beim **Zähneputzen** beachten:
Weiche Zahnbürste verwenden, möglichst *Kinderzahncreme* (ohne Menthol) verwenden
Regelmäßig putzen (3 x täglich)
– **Zahnschienen** zur Fluoridierung (falls vorhanden, erhalten Sie in der Regel von der Zahnklinik):
– 2 Wochen *vor Bestrahlungsbeginn*: mit **Fluoridgel** 1 x täglich für 5 min. einsetzen
– Nach Bestrahlungsbeginn benutzen, wenn Sie es vertragen; bei beginnender Schleimhautreizung nicht
– Nach Ende der Bestrahlung und Abheilen der Schleimhaut: 1 x tgl. mit Gel Zähne putzen

Was tue ich, wenn Nebenwirkungen auftreten?
Eine Haut- und Schleimhautreizung tritt häufig während und kurz nach der Bestrahlungsserie auf. Typischerweise beginnt sie ca. 2–3 Wochen nach Bestrahlungsbeginn. Es kann gelegentlich zu Wundgefühl in Mund und Rachen oder Schluckbeschwerden kommen. Aber: **Wir können Ihnen helfen**, indem wir Medikamente verschreiben, die die Beschwerden lindern. Bei frühzeitiger Gabe ist die Wirkung oft wesentlich besser. Also: Bei allen Beschwerden, die neu auftreten, **rechtzeitig Ihren Arzt am Bestrahlungsgerät informieren!** Außerdem sollten Sie rechtzeitig mit uns über Ihre Nachbehandlung (Kur) sprechen.

PATIENTENINFORMATION MAMMA

Liebe Patientin!

Wir haben Sie ja bereits beim Erstgespräch ausführlich über die besonderen Pflegemaßnahmen während der Strahlenbehandlung informiert. Zur Erinnerung haben wir für Sie die wichtigsten Hinweise zusätzlich noch einmal in schriftlicher Form zusammengestellt:

Hautpflege

– Die Haut im Bestrahlungsfeld dürfen Sie (z.B. beim Duschen) vorsichtig *mit lauwarmem Wasser benetzen*. Keine Seife, kein Duschgel etc.! Beim Abtrocknen nicht rubbeln! Evtl. mit einem Fön trocknen

– Sie bekommen von uns **Puder** verschrieben. Damit sollten Sie die bestrahlten Hautbereiche von Anfang an 3 x pro Tag *einpudern*.

– Andere Substanzen, wie Salben, Cremes, Gele, Deodorants usw. sollten Sie innerhalb der bestrahlten Region nicht verwenden. Im Zweifel fragen Sie Ihren betreuenden Arzt am Bestrahlungsgerät!

- möglichst weite, weiche Kleidung und Wäsche tragen, für Unterwäsche ist Baumwolle empfehlenswert. (Oft färben die Markierungslinien auch die Wäsche, nicht Ihre Lieblingswäsche benutzen!)

- möglichst viel Luft an bestrahlte Haut lassen, insbesondere im Bereich von Hautfalten, z.B. Achselhöhle

- wenn offene Stellen auftreten, immer dem betreuenden Arzt am Bestrahlungsgerät zeigen. Keine eigenen Cremes oder Salben benutzen!

Was tue ich, wenn Nebenwirkungen auftreten?

Eine gewisse Haut- und Schleimhautreizung tritt oft während und kurz nach der Bestrahlungsserie auf. Typischerweise beginnt sie nach ca. 2–3 Wochen. Bei allen Beschwerden, die neu auftreten, **rechtzeitig Ihren betreuenden Arzt am Bestrahlungsgerät informieren!** Außerdem sollten Sie rechtzeitig mit uns über Ihre Nachbehandlung (Kur) sprechen.

Anlage 5: Bisherige Publikation der Daten auf wissenschaftlichen Kongressen

1. Riesenbeck D, Ibrahim M, Greve B, Exeler R, Graw A, Willich N
   Influence of intensified supportive care and teaching on radiation mucositis
   Supportive Care in Cancer 2003, 11/6, 389

2. Riesenbeck D.
   Analyse von Risikofaktoren für akute Nebenwirkungen bei Strahlentherapie im Kopf-Hals-Bereich.
   In: RIESENBECK, D., FEYER, P., ADAMIETZ, I. A. (Hrsg.): Radiogene Nebenwirkungen, Supportivtherapie und radioonkologische Palliation im Kopf-Hals-Bereich.
   Diplodocus-Verlag, Altenberge 2002, ISBN 3-934870-17-1, 6-7

3. Ibrahim M, Riesenbeck D, Greve B, Exeler R, Severen E, Brinkmann M, Göhde W, Willich N
   Der Stellenwert von Mikronukleus-Direktbestimmung bei Patienten vor Bestrahlungsbeginn zur Prädiktion der inviduellen Strahlenempfindlichkeit
   Experimentelle Strahlentherapie und klinische Strahlenbiologie 2003, Band 12, 118-119
   ISSN 1432-864X

4. Riesenbeck D, Greve B, Ibrahim M, Exeler R, Liebscher C, Severin E, Brinkmann M, Willich N
   Evaluating the predictive value of the micronucleus assay for increased acute radiation sensitivity scored by oral mucosa
   Radiother Oncol 2003, 76/S1, S22

5. Riesenbeck D, Moustakis C, Greve B, Exeler R, Bremer J, Könemann S, Hesselmann S, Willich N
   Dosisverteilung an der Haut bei Bestrahlung von Restbrust und Thoraxwand nach operativer Therapie des Mammakarzinoms
   Strahlenther Onkol 2002, 178/S1, 14

Vorträge unter Verwendung von Projektdaten

06.02.03 und 06.02.04
Strahlenexposition und Strahlenschäden
Vortrag anlässlich des Strahlenschutzkurses in Münster

26.03.04
Strahlenfolgen in der Mundhöhle
Vortrag anlässlich der Fortbildung für ZMPH der Zahnärztekammer Westfalen-Lippe

25.06.04
Strahlenbiologie I: Allgemeine Einführung, Nichstochastische Strahlenschäden
Vortrag anlässlich des Strahlenschutzkurses in Dortmund