

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1-2
1.1	Behandlung benigner Erkrankungen mit Röntgenstrahlung	1-2
2.	Theoretischer Teil	3-14
2.1	Hypothetische Vorstellungen zum Wirkungsmechanismus der Strahlentherapie benigner Erkrankungen	3-4
2.2	Pathogenese entzündlicher Erkrankungen	4-5
2.3	Das Modell der Adjuvansarthritis	5-6
2.4	Untersuchte Faktoren der Adjuvansarthritis	7
2.4.1	Makrophagen (M ϕ)	7-9
2.4.2	Induzierbare Stickoxidsynthase (iNOS)	9-11
2.4.3	Hämoxygenase 1 (HO-1)	11-12
2.4.4	Zyclooxygenase 2 (COX-2)	13-14
3.	Problemstellung	15
4.	Material und Methoden	16-28
4.1	Versuchstiere	16
4.2	Experimentelles Design	16
4.2.1	Arthritisinduktion	16
4.2.2	Gruppeneinteilung	16-17
4.2.3	Bestrahlung	17-18
4.3	Klinische Parameter	18
4.3.1	Arthritisscore	18-19
4.3.2	Hinterpotenvolumen	20
4.3.3	Körpergewicht	20
4.3.4	Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG)	20
4.4	Histologische Aufarbeitung	20
4.4.1	Präparation der Tiere	20-21
4.4.2	Einfrieren der Gelenke	21
4.4.3	Einbetten der Gelenke	21
4.4.4	Anfertigen der Schnittpräparate	21-22
4.4.5	Färbungen	22
4.4.5.1	Übersichtsfärbungen für die konventionelle Histologie	22
4.4.5.2	Immunhistochemische Färbung	22-26
4.5	Auswertung der Histologien	26
4.5.1	Auswertung der Übersichtsfärbungen	26-27
4.5.2	Auswertung der immunhistochemisch gefärbten Präparate	27-28
4.6	Statistische Analyse	28
5.	Ergebnisse	29-52
5.1	Klinische Effekte	29
5.1.1	Klinische Parameter	29
5.1.2	Arthritisscore (AS)	29-30
5.1.3	Hinterpotenvolumen (HPV)	30-31
5.1.4	Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG)	31-32
5.1.5	Körpergewicht (KG)	32
5.2	Konventionelle Histologie	33
5.2.1	Entzündungsinfiltration	33

5.2.2	Knorpeldestruktion	33-34
5.2.3	Knochendestruktion	34-35
5.3	Immunhistochemische Analyse	36
5.3.1	Immunlokalisation von Makrophagen, iNOS, HO-1 und COX-2	36-42
5.3.2	Semiquantitativer Nachweis Makrophagen-positiver Areale	43
5.3.3	Semiquantitativer Nachweis iNOS-positiver Areale	43-44
5.3.4	Semiquantitativer Nachweis HO-1-positiver Areale	44
5.3.5	Semiquantitativer Nachweis COX-2-positiver Areale	44-52
6.	Diskussion	53-71
6.1	Experimentelles Design	53
6.1.1	Verwendetes Modell	53
6.1.2	Gruppeneinteilung und Bestrahlung	53-54
6.2	Modulation klinischer Entzündungsparameter durch niedrig dosierte Strahlentherapie (LD-RT)	54-55
6.3	Modulation histomorphologischer Parameter durch niedrig dosierte Strahlentherapie (LD-RT)	55
6.3.1	Entzündungsinfiltrat	55-56
6.3.2	Knochen- und Knorpeldestruktion	56
6.4	Modulation immunhistochemischer Parameter durch niedrig dosierte Strahlentherapie (LD-RT)	57
6.4.1	Semiquantitativer Nachweis der Makrophagen	57-60
6.4.2	Semiquantitativer Nachweis HO-1 positiver Areale	60-62
6.4.3	Beeinflussung der induzierbaren Stickoxidsynthase (iNOS)	62-66
6.4.4	Beeinflussung der Zyklooxygenase (COX-2)	66-68
6.5	Hypothetische Wirkungsweise niedrig dosierter Röntgenstrahlung	68-71
7.	Zusammenfassung	72-75
8.	Literaturverzeichnis	76-87
9.	Anhang	88-92
9.1	Glossar	88-89
9.2	Eigenständigkeitserklärung	90
9.3	Lebenslauf	91
9.4	Danksagung	92

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Schematischer Ablauf der Reaktion von L-Arginin + O ₂ zu L-Citrullin + Stickstoffmonoxyd (NO•) unter katalytischer Beteiligung der Stickoxidsynthase.	10
Abb. 2	Schematische Darstellung der Reaktion von Häm zu äquimolaren Mengen von Eisen (Fe), Kohlenmonoxid (CO) und Biliverdin unter Beteiligung der Hämoxxygenase.	12
Abb. 3	Modell für die Regulation der Prostaglandinsynthese im physiologischen und entzündlich veränderten Stadium.	14
Abb. 4	Lagerung der Versuchstiere in Bestrahlungsposition.	18
Abb. 5	CT-Scan einer Ratte mit adjuvanter Arthritis in Bestrahlungsposition zur Simulation der Bestrahlungsfelder.	18
Abb. 6	Klinisches Bild einer nicht-arthritischen Ratte und einer arthritischen Ratte am Tag 15 nach Arthritisinduktion.	19
Abb. 7	CT-Scan der rechten Hinterpfote einer nicht-arthritischen Ratte am Tag 15 nach Induktion.	19
Abb. 8	CT-Scan der rechten Hinterpfote einer Ratte mit adjuvanter Arthritis am Tag 15 nach Arthritisinduktion.	19
Abb. 9	Messung der ödematösen Schwellung der Hinterpfoten mit einem Wasser-Plethysmometer.	20
Abb. 10	Schematischer Ablauf der angewendeten immunhistochemischen Färbetechnik.	23
Abb. 11	Verlauf des semiquantitativen Arthritiscores (AS) bei scheinbehandelten und lokal niedrig dosiert bestrahlten Versuchstieren von Tag 0 bis Tag 30 nach Arthritisinduktion.	30
Abb. 12	Verlauf des Hinterpfotenvolumens (HPV) bei scheinbehandelten und lokal niedrig dosiert bestrahlten Versuchstieren von Tag 0 bis Tag 30 nach Arthritisinduktion.	31
Abb. 13	Mittleres Hinterpfotenvolumen (HPV) und mittlerer Arthritis-Score (AS) am Ende der Beobachtungszeit (Tag 27 und 29) bei den unterschiedlichen Versuchsgruppen.	31
Abb. 14	Verlauf der Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) bei scheinbehandelten und lokal niedrig dosiert bestrahlten Versuchstieren von Tag 0 bis Tag 30 nach Arthritisinduktion.	32
Abb. 15	Verlauf des Körpergewichts bei scheinbehandelten und lokal niedrig dosiert bestrahlten Versuchstieren von Tag 0 bis Tag 30 nach Arthritisinduktion.	32
Abb. 16	Ausmaß von entzündlicher Infiltration, Knorpel- und Knochen-destruktion an den Tagen 21 u. 30 nach Arthritisinduktion in den verschiedenen Behandlungsgruppen.	35
Abb. 17	Immunlokalisation des Makrophagen am Tag 21 bei einem schein-behandelten arthritischen Tier (Gr. 2 T3).	37

Abb. 18	Immunlokalisation von iNOS am Tag 21 bei einem scheinbehandelten arthritischen Tier (Gr. 2 T3).	38
Abb. 19	Immunlokalisation von HO-1 am Tag 21 bei einem scheinbehandelten arthritischen Tier (Gr. 2 T3).	39
Abb. 20	Immunlokalisation des Makrophagen am Tag 30 bei einem scheinbehandelten arthritischen Tier (Gr. 2 T4).	40
Abb. 21	Immunlokalisation von iNOS am Tag 30 bei einem scheinbehandelten arthritischen Tier (Gr. 2 T4).	41
Abb. 22	Immunlokalisation von HO-1 am Tag 30 bei einem scheinbehandelten arthritischen Tier (Gr. 2 T4).	42
Abb. 23	Immunlokalisation von M ϕ , iNOS, HO-1 und COX-2 an den Tagen 21 u. 30 nach Arthritisinduktion in den verschiedenen Behandlungsgruppen.	45
Abb. 24	Immunlokalisation von Makrophagen, iNOS, HO-1 und COX-2 am Tag 21 nach Arthritisinduktion in einem repräsentativen Gelenk aus der scheinbestrahlten Kontrollgruppe (Gr. 2).	47
Abb. 25	Immunlokalisation von Makrophagen, iNOS, HO-1 und COX-2 am Tag 21 nach Arthritisinduktion in einem repräsentativen Gelenk aus der bestrahlten Gruppe 3 (5x1,0 Gy).	48
Abb. 26	Immunlokalisation von Makrophagen, iNOS, HO-1 und COX-2 am Tag 21 nach Arthritisinduktion in einem repräsentativen Gelenk aus der bestrahlten Gruppe 4 (5x0,5 Gy).	49
Abb. 27	Immunlokalisation von Makrophagen, iNOS, HO-1 und COX-2 am Tag 30 nach Arthritisinduktion in einem repräsentativen Gelenk aus der scheinbestrahlten Kontrollgruppe (Gr. 2).	50
Abb. 28	Immunlokalisation von Makrophagen, iNOS, HO-1 und COX-2 am Tag 30 nach Arthritisinduktion in einem repräsentativen Gelenk aus der bestrahlten Gruppe 3 (5x1,0 Gy).	51
Abb. 29	Immunlokalisation von Makrophagen, iNOS, HO-1 und COX-2 am Tag 30 nach Arthritisinduktion in einem repräsentativen Gelenk aus der bestrahlten Gruppe 4 (5x0,5 Gy).	52
Abb. 30	Schematische Darstellung der Wirkung niedrig dosierter Röntgenstrahlung auf Adhäsionsvorgänge peripherer Blutmonozyten.	58
Abb. 31	Veränderung der Zytokinsekretion aktivierter Makrophagen unter dem Einfluss niedrig dosierter Röntgenstrahlung.	60
Abb. 32	Möglichkeiten der HO-1 Induktion durch niedrig dosierte Röntgenstrahlung.	62
Abb. 33	Beeinflussung der iNOS-Sekretion durch Veränderung der Proteasomaktivität nach niedrig dosierter Röntgenstrahlung.	65
Abb. 34	Die Auswirkung niedrig dosierter Röntgenstrahlung auf die Zyklooxygenase-2-Expression (COX-2).	68
Abb. 35	Arbeitshypothese zur Wirkung niedrig dosierter Radiotherapie.	71

Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Gruppeneinteilung der Versuchstiere nach Arthritisinduktion, Behandlungszeitraum und applizierter Dosis.	17
Tab. 2	Semiquantitative Beurteilung des Arthritiscores	19
Tab. 3	Primärantikörper einschließlich Isotyp, Hersteller und verwendete Verdünnung.	23
Tab. 4	Sekundärantikörper einschließlich Isotyp, Hersteller und verwendeter Verdünnung.	24
Tab. 5	Semiquantitativer Score zur Beurteilung des Ausmaßes von Knorpel- und Knochendestruktion.	27
Tab. 6	Semiquantitativer Score zur Beurteilung des Ausmaßes der Entzündungsinfiltration.	27
Tab. 7	Semiquantitativer Score zur Beurteilung der immunopositiven Areale für Makrophagen, iNOS, HO-1, COX-2.	27
Tab. 8	Mittleres Hinterpotenvolumen (HPV) und mittlerer Arthritis-Score (AS) am Ende der Beobachtungszeit (Tag 27 und 29) in den verschiedenen Behandlungsgruppen.	31
Tab. 9	Ausmaß von entzündlicher Infiltration, Knorpel- und Knochen- destruktion an den Tagen 21 u. 30 nach Arthritisinduktion in den verschiedenen Behandlungsgruppen.	35
Tab. 10	Immunlokalisation von M ϕ , iNOS, HO-1 und COX-2 an den Tagen 21 u. 30 nach Arthritisinduktion in den verschiedenen Behandlungsgruppen.	45