

Themenschwerpunkt

Was wissen wir über die Mechanismen des Zeitfaktors in der onkologischen Therapie?

Cordula Petersen, Michael Baumann¹

Hintergrund: Eine Reihe experimenteller und prospektiv randomisierter Studien zeigt, dass die Chance der lokalen Tumorvernichtung mit zunehmender Gesamtbehandlungszeit einer fraktionierten Strahlentherapie vermindert werden kann.

Methodik: In einer Literaturzusammenstellung werden mögliche Mechanismen dieses Zeitfaktors diskutiert.

Ergebnisse und Schlussfolgerungen: Die Mechanismen des Zeitfaktors in der onkologischen Therapie sind komplex und derzeit nicht vollständig geklärt. Die schnelle Proliferation klonogener Tumorzellen während kontinuierlicher Fraktionierung und in Therapiepausen konnte in Experimentaltumoren als eine wesentliche Ursache des Zeitfaktors für die Strahlentherapie ermittelt werden. Auch durch eine Chemotherapie kann die Repopulierung von Experimentaltumoren durch klonogene Tumorzellen stimuliert werden. Neben der Repopulierung durch klonogene Tumorzellen können weitere Faktoren, z.B. eine zunehmende Schädigung des Tumorgefäßnetzes mit konsekutiver Zunahme der Tumorphypoxie, zum Zeitfaktor beitragen.

Schlüsselwörter: Zeitfaktor · Fraktionierte Strahlentherapie · Onkologische Therapie · Proliferation · Repopulierung · Hypoxie

What do We Know about the Mechanisms of the Time Factor in Oncological Therapy?

Background: Experimental studies and prospective randomized clinical trials have demonstrated a detrimental effect of prolongation of overall treatment time on local tumor control.

Methods: In a brief review of the literature, possible mechanisms of the time factor are discussed.

Results and Conclusions: The mechanisms of the time factor in cancer treatment are complex and, at present, not fully understood. In experimental tumors, rapid proliferation of clonogenic cells during fractionated irradiation and treatment gaps has been determined as a major cause of the time factor in radiotherapy. Also, chemotherapy can stimulate repopulation of experimental tumors by clonogenic cells. Besides repopulation of clonogenic tumor cells, other factors such as the deterioration of the tumor vasculature with increasing tumor hypoxia might contribute to the time factor.

Key Words: Time factor · Fractionated irradiation · Oncological therapy · Proliferation · Repopulation · Hypoxia

In der Radioonkologie ist ein Zeitfaktor, das heißt eine Abnahme der Tumorkontrollwahrscheinlichkeit mit zunehmender Gesamtbehandlungszeit einer fraktionierten Strahlentherapie, durch Untersuchungen an Experimentaltumoren [1, 5, 6, 7, 23] und durch randomisierte klinische Studien an Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals-Bereiches und nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen belegt (Literaturzitate in: [4, 26]). Für weitere Tumorentitäten ist damit zu rechnen, dass ein Zeitfaktor der fraktionierten Strahlentherapie besteht.

Auch für die systemische Therapie, für operative Maßnahmen und für multidisziplinäre Therapiekonzepte ist ein Einfluss der Gesamttherapiedauer auf die Ergebnisse wahrscheinlich. Im Folgenden soll der gegenwärtige Wissensstand zu den Mechanismen des Zeitfaktors in der onkologischen Therapie kurz zusammengefasst werden. Der Schwerpunkt liegt dabei auf der Strahlentherapie, die chirurgische Therapie und systemische Therapie werden in anderen Beiträgen dieser Ausgabe abgehandelt [16, 30].

¹ Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden.

Diese Arbeit wurde in Teilen durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Ba 1433) unterstützt.

Eingang des Manuskripts: 28. 4. 2000; Annahme des Manuskripts: 26. 7. 2000.

Die Wachstumsgeschwindigkeit unbehandelter Tumoren reicht zur Erklärung des Zeitfaktors nicht aus

Die meisten Tumoren, insbesondere solide Tumoren des Erwachsenen, haben eine relativ lange Volumenverdopplungszeit (Tabelle 1). Für Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereiches und für nichtkleinzellige Bronchialkarzinome liegt die durchschnittliche Volumenverdopplungszeit im Bereich von sechs Wochen bis drei Monaten. Würde die Volumenverdopplungszeit unbehandelter Tumoren die Proliferationsgeschwindigkeit klonogener Tumorzellen während der Therapie widerspiegeln, so wäre über die Zeitdauer einer kurativen Strahlentherapie von sechs bis sieben Wochen etwa eine Zunahme der Zahl klonogener Tumorzellen um den Faktor 2, also z. B. von 20 Millionen auf 40 Millionen, zu erwarten. Ein solcher Anstieg erscheint zwar auf den ersten Blick immens, kann aber den Zeitfaktor der Strahlentherapie nicht erklären, da die Abtötung der klonogenen Tumorzellen exponentiell erfolgt. Mit jeder 2-Gy-Fraktion werden etwa 50% aller klonogenen Tumorzellen abgetötet [9]. Eine Verdopplung der Zahl klonogener Zellen während einer kurativen Strahlentherapie würde also lediglich einem Dosisverlust von etwa 2 Gy entsprechen, ein Unterschied, der klinisch nicht nachweisbar wäre. Ausnahmen sind seltene, ausgesprochen schnell proliferierende Tumoren mit Volumenverdopplungszeiten von wenigen Tagen.

Natürlich kann das Wachstum unbehandelter Tumoren immer dann die Ergebnisse einer onkologischen Behandlung verschlechtern, wenn der Beginn der Therapie durch Verschleppung der Diagnose oder aufgrund von Wartelisten über längere Zeit verzögert wird. Am deutlichsten ist dies im Rahmen einer operativen Therapie. Hier kann eine Verdopplung des Tumorumfanges den Unterschied zwischen

Tumor	Histologie	Durchschnittl. VDT (Tage)	Range
<i>Lungenmetastasen</i>			
Kolon/Rektum	Adenokarzinom	95	84–107
Brustdrüse	Adenokarzinom	74	56–98
Niere	Adenokarzinom	60	37–98
Schilddrüse	Adenokarzinom	67	44–103
Gebärmutter	Adenokarzinom	78	55–111
HNO	Plattenepithelkarzinom	57	43–75
Fibrosarkom		65	46–93
Osteosarkom		30	24–38
Teratom		30	25–36
Lymphom		27	19–39
<i>Primärtumoren</i>			
Lunge	Adenokarzinom	148	121–181
	Plattenepithelkarzinom	85	75–95
	Undifferenziertes Karzinom	79	67–93
Rektum	Adenokarzinom	632	426–938
Brustdrüse	Adenokarzinom	96	68–134

Tabelle 1. Durchschnittliche Volumenverdopplungszeit menschlicher Tumoren. Die angegebenen Werte weisen weite Schwankungen auf. Nach [25]. VDT = Volumenverdopplungszeit.

Table 1. Mean volume doubling times for human tumors. The values show wide variations.

Resektabilität und einem nicht mehr resektablen Tumor bedeuten. Aber auch für Chemotherapie und Strahlentherapie können ausgeprägte Verzögerungen zu einer Verschlechterung der Therapieergebnisse führen. Mikrometastasen, die einer effektiven systemischen Therapie gerade eben noch zugänglich sind, können durch Verdopplung der Zellzahl inkurabel werden. Bestrahlungsfelder können durch die Volumenzunahme so groß werden, dass eine kurative Dosis nicht mehr appliziert werden kann oder Sicherheitsabstände nicht mehr eingehalten werden können. Darüber hinaus kann aufgrund einer Größenzunahme der Anteil strahlenresistenter hypoxischer Tumorzellen zunehmen und die intratumorale Verfügbarkeit der Chemotherapie infolge verschlechterter Durchblutungsbedingungen abnehmen.

Beschleunigte Proliferation klonogener Tumorzellen als eine wesentliche Ursache des Zeitfaktors

Die Volumenverdopplungszeit eines Tumors wird durch drei Größen beeinflusst, nämlich die Zellzykluszeit, die Wachstumsfraktion und den Zellverlust. In Tabelle 2 sind proliferationskinetische Parameter für nichtkleinzellige Bronchialkarzinome und für Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereiches zusammengestellt [25, 31]. Im Gegensatz zur langen Volumenverdopplungszeit beträgt die potentielle Verdopplungszeit der Tumorzellen, das heißt die Verdopplungszeit in Abwesenheit von Zellverlust, für viele menschliche Tumoren nur wenige Tage. Zellverlust aus dem Tumor kann dabei durch das Abdrängen von Zellen in Nekrosen, durch Abschliffen, Resorption, Apoptose und Differenzierung bedingt sein. Falls während einer Behandlung der Zellverlust abnimmt, falls ruhende Tumorzellen zu proliferieren beginnen oder falls die Proliferationsgeschwindigkeit der Stammzellen zunimmt, besteht die Möglichkeit, dass sich die Verdopplungszeit klonogener Tumorzellen deutlich verkürzt [10, 13, 28]. Diese beschleunigte Proliferation wird heute als wesentlicher Mechanismus des Zeitfaktors in der onkologischen Therapie angesehen.

Untersuchungen an Experimentaltumoren unter klinikähnlichen Bedingungen zeigen, dass, bei erheblichen Unterschieden im Ausmaß dieses Phänomens, die zur lokalen Kontrolle notwendige Strahlendosis mit zunehmender Gesamtbehandlungszeit ansteigt [1, 5–7, 23]. Wie in klinischen Untersuchungen kann jedoch durch diese experimentellen Studien nicht belegt werden, dass die Ursache des Zeitfaktors die akzelerierte Proliferation klonogener Tumorzellen ist. Hierzu müssen alternative Erklärungsmechanismen wie

Tumor	VDT (Tage)	T _{pot} (Tage)	Zellverlust (%)
Kopf-Hals-Bereich (Plattenepithelkarzinome)	57 (43–75)*	7 (1,8–70)	> 90
Nichtkleinzellige Bronchialkarzinome	85 (75–95)	7 (1,4–130)	> 95

Tabelle 2. Proliferationskinetische Parameter für Kopf-Hals-Tumoren und nichtkleinzellige Bronchialkarzinome. VDT = Tumorverdopplungszeit nach [25], vgl. Tabelle 1; T_{pot} = potentielle Verdopplungszeit nach [31]; * Median (Range).

Table 2. Proliferation parameters for head and neck tumors and non-small-cell lung cancer. Adapted from [25] and [31]; * Median (range).

z. B. eine zunehmende Hypoxie (siehe unten) experimentell ausgeschlossen werden. Von mehreren Arbeitsgruppen wurden daher Untersuchungen über den Einfluss der Gesamtbehandlungszeit auf die lokale Tumorkontrolle während fraktionierter Bestrahlung unter abgeklemmtem Blutfluss, das heißt unter homogen anoxischen Bedingungen, durchgeführt [24, 27, 29]. Durch diese Experimente konnte für verschiedene Tumormodelle (zwei murine Plattenepithelkarzinome, ein murines Ovarialkarzinom, ein menschliches Plattenepithelkarzinom auf Nacktmäusen) ein Zeitfaktor nachgewiesen werden, der auf einer Zunahme der Proliferationsgeschwindigkeit klonogener Tumorzellen während der Strahlentherapie beruht. Die Verzögerung bis zur Beschleunigung der Proliferation variierte dabei zwischen ein und drei Wochen. In guter Übereinstimmung mit diesen experimentellen Befunden deuten Analysen klinischer Daten an, dass mit zunehmender Gesamtbehandlungszeit die erholte Dosis pro Tag zunimmt (*dog-leg*). Diese Daten sind allerdings derzeit noch lückenhaft und somit nur mit Vorsicht zu interpretieren. Anzumerken bleibt, dass eine beschleunigte Repopulierung klonogener Tumorzellen nicht nur durch Bestrahlung, sondern auch durch Chemotherapie induziert werden kann [22]. Darüber hinaus ist es nicht unwahrscheinlich, dass verbliebene Tumorzellen nach Operation, z.B. durch Zytokinkaskaden während der Wundheilung, zu einer beschleunigten Proliferation stimuliert werden können [2].

Als mögliche Ursachen der beschleunigten Repopulierung unterschiedlicher Experimentaltumoren während Strahlentherapie durch klonogene Tumorzellen wurden eine kompensatorische Verschiebung von asymmetrischen zu symmetrischen Stammzellteilungen, eine verminderte Apoptose und eine zunehmende Proliferation infolge einer verbesserten Versorgungssituation überlebender Tumorzellen diskutiert [6, 19, 21, 27, 29]. Die Breite der Erklärungen zeigt, dass weitere Untersuchungen zu den Mechanismen der Repopulierung und eventuellen Unterschieden zwischen verschiedenen Tumoren notwendig sind.

In klinischen Untersuchungen wurde versucht, durch prätherapeutische Messungen von zellkinetischen Parametern in Tumorbiopsien Voraussagen zum Zeitfaktor individueller Tumoren während einer Strahlentherapie zu treffen. Diese Untersuchungen erschienen zunächst vielversprechend, letztendlich ergab sich jedoch nur eine geringe Voraussagekraft [8]. Eine wesentliche Ursache hierfür dürfte die Veränderung zellkinetischer Parameter der klonogenen Zellen während der Therapie sein. Wiederholte Messungen im Verlauf der Therapie können dieses Problem nicht lösen, da ein Marker zur Identifizierung der wenigen überlebenden klonogenen Tumorzellen nicht zur Verfügung steht. Abbildung 1 illustriert dies anhand experimenteller Daten, die an einem schnell proliferierenden menschlichen Plattenepithelkarzinom in Nacktmäusen ermittelt wurden [14]. Während fraktionierter Strahlentherapie ergaben sich keine signifikanten Veränderungen des Markierungsindex für BrdU, einem Marker der S-Phase, und Ki67, einem Marker für alle Zellen innerhalb des Zellzyklus. Im Gegensatz dazu konnte durch begleitende funktionelle Messungen nachgewiesen werden, dass die klonogenen Tumorzellen bis etwa Tag 20 nach Therapiebeginn nicht bzw. nur sehr langsam proliferieren, um anschließend akzeleriert zu proliferieren [24].

In klinischen Datensätzen wurden kürzlich Anhaltspunkte dafür gefunden, dass der Zeitfaktor bei gut differenzierten Plattenepithelkarzinomen ausgeprägter ist als bei schlecht differenzierten Tumoren [16]. Diese Ergebnisse könnten darauf hinweisen, dass solche Tumoren, die dem normalen Plattenepithel in ihrem Aufbau noch weitgehend ähneln, durch eine kompensatorische Umstellung ihrer Proliferationsstruktur aktiv auf einen Strahleninsult reagieren. Eine solche Reaktion ist für normales Plattenepithel in experimentellen und klinischen Untersuchungen nachgewiesen worden, wobei die auslösenden Signale noch unbekannt sind [11]. Falls ein solcher komplexer biologischer Kompensationsmechanismus in (einigen) Tumoren erhalten ist, hätte dies erhebliche klinische Implikationen. Derzeit können zu dieser interessanten Frage aufgrund widersprüchlicher experimenteller Befunde jedoch noch keine Schlussfolgerungen gezogen werden [6].

Zunehmende Hypoxie als alternative Erklärungsmöglichkeit des Zeitfaktors

Da hypoxische Tumorzellen strahlenresistenter sind als gut oxygenierte Tumorzellen, könnte auch ein wachsender Anteil hypoxischer Tumorzellen mit zunehmender Gesamtbehandlungszeit den Zeitfaktor der fraktionierten Strahlentherapie erklären. In der Tat konnten Zywiets et al. [32] in

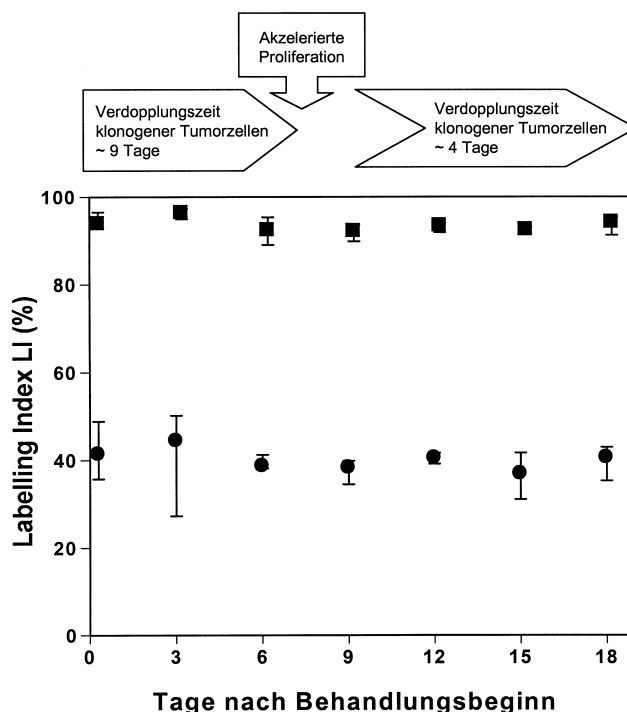


Abbildung 1. Mediane Labelling-Indices (LI) für die Proliferationsparameter Ki67 (■) und BrdU (●) während fraktionierter Strahlentherapie von FaDu-Tumoren in Nacktmäusen. Ein Punkt entspricht dem medianen LI aus 15 Gesichtsfeldern in drei Tumoren pro Experimentalgruppe. Die Fehlerbalken entsprechen dem 95%-Vertrauensbereich des Medians. Nach [14].

Figure 1. Median labeling indices (LI) for the proliferation marker Ki67 (■) and BrdU (●) during fractionated radiotherapy of FaDu tumors in nude mice. One symbol represents the median LI from 15 visual fields of 3 tumors per experimental group. Error bars represent 95% confidence limits of the median. Adapted from [14].

umfangreichen Untersuchungen an einem Rattensarkom nachweisen, dass ab der dritten Woche einer Strahlentherapie mit 5-mal 3 Gy pro Woche das Gefäßnetz zunehmend rarefiziert wird und die interstitiell bestimmten pO_2 -Werte abnehmen. Ob parallel hierzu der Anteil hypoxischer klonogener Tumorzellen ansteigt, bleibt in weiteren Untersuchungen zu klären. Eine zunehmende Rarefizierung des Tumorgefäßnetzes während fraktionierter Strahlentherapie wurde auch an zwei humanen Plattenepithelkarzinomen in Nacktmäusen beobachtet [3]. Abbildung 2 zeigt zur Illustration das Gefäßnetz eines typischen Tumors vor Beginn der Bestrahlung und nach 20 Fraktionen in vier Wochen. Für eines der beiden Tumormodelle konnte mittels funktionell-strahlenbiologischer Techniken ein Anstieg des Anteils hypoxischer klonogener Tumorzellen nachgewiesen werden. Dieser Anstieg war jedoch nicht signifikant [3]. Es ergaben sich auch gegenläufige Befunde [19], sodass weitere Experimente zur Klärung dieser Fragestellung notwendig sind.

Weitere mögliche Mechanismen des Zeitfaktors

Bei der Chemotherapie kann durch eine Resistenzbildung gegenüber den eingesetzten Substanzen eine lange Behandlungszeit mit einem schlechteren Therapieergebnis einhergehen (vgl. [30]). Auch bei einer Strahlentherapie wäre es theoretisch denkbar, dass die intrinsische Strahlenresistenz, z. B. durch Induktion von Reparaturenzymen, zeitabhängig zunimmt. Experimentell ergibt sich hierfür jedoch kein Anhalt. Im Gegenteil, in einer experimentellen Untersuchung nahm die Kapazität von Plattenepithelkarzinomen zur Erholung von subletalen Strahlenschäden während fraktionierter Bestrahlung ab [17]. Ein vergleichbarer Effekt ergab sich an normaler Mundschleimhaut von Mäusen [12]. Eine mögliche Interpretation dieser Befunde ist, dass eine gesteigerte Proliferationsgeschwindigkeit von Mukosastammzellen bzw. klonogenen Tumorzellen mit einer verringerten Erholungskapazität von subletalen Strahlenschäden einhergeht.

Können lange Gesamtbehandlungszeiten auch eine verbesserte Tumorkontrolle bewirken? Mögliche Mechanismen eines inversen Zeitfaktors

Durch mehrere Mechanismen könnte es theoretisch auch zu einer Steigerung der Empfindlichkeit eines Tumors mit zunehmender Gesamtbehandlungszeit der onkologischen Therapie kommen („inverser Zeitfaktor“). Die Reoxygenierung klonogener Tumorzellen nach Bestrahlung mit hohen Einzeldosen ist ein zeitabhängiger Prozess, der viele Stunden benötigen kann [18, 20]. Falls die Reoxygenierungskinetik bei klinikkrelevanter Fraktionierung ähnlich ist, könnte ein kurzes Zeitintervall zwischen den Fraktionen bzw. eine zu kurze Gesamtbehandlungszeit zu einem schlechteren Therapieergebnis führen. Da Messungen des interstitiellen pO_2 s oder auch der immunhistochemische Nachweis hypoxischer Zellen nicht zwischen klonogenen und nichtklonogenen Tumorzellen unterscheiden können, kann dieses Phänomen derzeit nur in aufwendigen radiobiologischen Experimenten auf Stammzebene weiter abgeklärt werden.

Ruhende Tumorzellen in der G₀-Phase sind relativ unempfindlich gegenüber Strahlung und vielen Chemotherapeutika. Falls es im Verlauf der Therapie zu einem Recruitment solcher Zellen in den Zellzyklus kommt, könnte sich die Empfindlichkeit des Tumors steigern. Insgesamt bleibt festzustellen, dass es im Bereich der Strahlentherapie derzeit keinerlei überzeugenden Hinweis auf eine Verbesserung der Kontrolle von Tumoren durch verlängerte Gesamtbehandlungszeiten gibt. Bei der Chemotherapie ist die Relevanz eines „inversen Zeitfaktors“ auf die Tumorstörung schwieriger einzuschätzen [30].

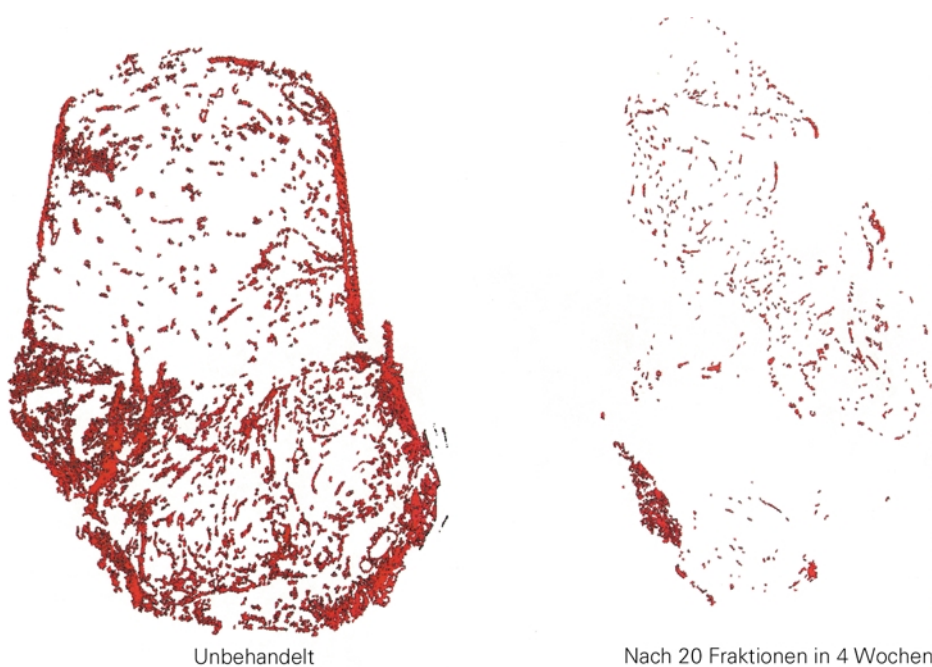


Abbildung 2. Immunohistochemische Darstellung intratumoraler Gefäße in einem unbehandelten humanen Plattenepithelkarzinom auf Nacktmäusen (links) sowie in der gleichen Tumormlinie nach Bestrahlung mit 20 Fraktionen in vier Wochen (rechts). Die Färbung erfolgte mittels Ratten-anti-Mausendothel-Antikörper 9F1.

Figure 2. Immunohistochemical image of the intratumoral vessels in an untreated human squamous cell carcinoma in nude mice (left) compared to the same tumor line after irradiation with 20 fractions in 4 weeks (right). The staining was performed using the rat monoclonal anti-mouse-endothelium antibody 9F1.

Literatur

1. Allam A, Perez LA, Huang P, et al. The effect of the overall treatment time of fractionated irradiation on the tumor control probability of a human soft tissue sarcoma xenograft in nude mice. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;32:105–11.
2. Ang KK. Impact of overall time factor of radiation or combined therapy on the treatment outcome of advanced head and neck cancer. In: Bhudatt RP, Fowler JF, eds. Volume and kinetics in tumor control and normal tissue complications. Berlin: Springer, 1998:289–306.
3. Appold S, Eicheler W, van der Kogel A, et al. Morphologische Untersuchungen zur Vaskularisierung, Perfusion und Hypoxie während fraktionierter Bestrahlung in FaDu- und GL-Plattenepithelkarzinomen. *Exp Strahlenther Klin Radiobiol* 1999;8:5–9.abstract.
4. Baumann M, Herrmann T. Der Zeitfaktor in der onkologischen Therapie. *Strahlenther Onkol* 2000;176:441–2.
5. Baumann M, Liertz C, Baisch H, et al. Impact of overall treatment time of fractionated irradiation on local control of human FaDu squamous cell carcinoma in nude mice. *Radiother Oncol* 1994;32:137–43.
6. Baumann M, Petersen C, Schulz P, Baisch H. Impact of overall treatment time on local control of slow growing human GL squamous cell carcinoma in nude mice treated by fractionated irradiation. *Radiother Oncol* 1999;50:107–11.
7. Beck-Bornholdt HP, Omniczynski M, Theis E, et al. Influence of treatment time on the response of rat rhabdomyosarcoma R1H to fractionated irradiation. *Acta Oncol* 1991;30:57–63.
8. Begg AC, Haustermans K, Hart AAM, et al. The value of pretreatment cell kinetic parameters as predictors for radiotherapy outcome in head and neck cancer: a multicenter analysis. *Radiother Oncol* 1999;50:13–23.
9. Bentzen S. Time-dose relationships for human tumors: estimation from nonrandomized studies. In: Beck-Bornholdt HP, ed. Current topics in clinical radiobiology of tumours. Berlin: Springer, 1993:11–26.
10. Denekamp J. Tumour stem cells: facts, interpretation and consequences. *Radiother Oncol* 1994;30:6–10.
11. Dörr W. Three A's of repopulation during fractionated irradiation of squamous epithelia: asymmetry loss, acceleration of stem-cell divisions and abortive divisions. *Int J Radiat Biol* 1997;72:635–43.
12. Dörr W, Brankovic K, Hartmann B. Repopulation in mouse oral mucosa: changes in the effect of dose fractionation. *Int J Radiat Biol* 2000;76:383–90.
13. Fowler JF. The phantom of tumor treatment – continually rapid proliferation unmasked. *Radiother Onkol* 1991;22:156–8.
14. Frömmel A, Eicheler W, Zips D, et al. Morphometrische Untersuchung zur Proliferation von FaDu-Tumoren während fraktionierter Bestrahlung. *Exp Strahlenther Klin Radiobiol* 1999;8:28–36.abstract.
15. Gretschesel S, Rau B, Wust P, et al. Bedeutung der Wartezeit bei Tumorpatienten am Beispiel der Vorbehandlung des lokal fortgeschrittenen Rektumkarzinoms. *Strahlenther Onkol* 2000;176:448–51.
16. Hansen O, Overgaard J, Sand-Hansen H, et al. Importance of overall treatment time for the outcome of radiotherapy of advanced head and neck carcinoma: dependency on tumor differentiation. *Radiother Oncol* 1997;43:47–51.
17. Jackisch T, Zips D, Noack K, et al. Hemmung der Neoangiogenese verbessert das Ergebnis einer fraktionierten Strahlentherapie von FaDu-Tumoren in Nacktmäusen. *Exp Strahlenther Klin Radiobiol* 2000;9:48–52.abstract.
18. Kallman RF. The phenomenon of reoxygenation and its implications for fractionated radiotherapy. *Radiology* 1972;105:135–42.
19. Krause M, Petersen C, Zips D, et al. Zeitfaktor bei FaDu-Tumoren: nicht zunehmende, sondern abnehmende Hypoxie. *Exp Strahlenther Klin Radiobiol* 2000;9:64–9.abstract.
20. Kummermehr J, Fink R, Preuß-Bayer G, et al. Reoxygenierung in einem transplantablen Fibrosarkom der Maus. *Strahlenther* 1981;157:272–6.
21. Kummermehr J, Trott KR. Tumour stem cells. In: Potten CS, ed. Stem cells. London: Academic Press, 1997:363–99.
22. Milas L, Nakayama T, Hunter N, et al. Dynamics of tumor cell clonogen repopulation in a murine sarcoma treated with cyclophosphamide. *Radiother Oncol* 1994;30:247–53.
23. Pavy JJ, Rojas A, Hodgkiss R, et al. Proliferation in CaNT tumours during and after fractionated radiotherapy. London: Gray Laboratory Annual Report 1990:44–7.
24. Schöne K, Petersen C, Zips D, et al. Repopulierung von FaDu-Plattenepithelkarzinomen während fraktionierter Bestrahlung unter abgeklemmten Blutfluß. *Exp Strahlenther Klin Radiobiol* 1999;8:21–6.abstract.
25. Steel GG. Growth kinetics of tumours. Oxford: Clarendon Press, 1977.
26. Stuschke M, Marnitz S, Wurm R, et al. Für welche Tumorentitäten ist ein Einfluss der Gesamtbehandlungszeit auf die Ergebnisse der Strahlentherapie evident? *Strahlenther Onkol* 2000;176:462–5.
27. Thames HD, Ruifrok AC, Milas L, et al. Accelerated repopulation during fractionated irradiation of a murine ovarian carcinoma: downregulation of apoptosis as a possible mechanism. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996;35:951–62.
28. Trott KR. Tumour stem cells: the biological concept and its application to cancer treatment. *Radiother Oncol* 1994;30:1–5.
29. Trott KR, Kummermehr J. Accelerated repopulation in tumours and normal tissues. *Radiother Oncol* 1991;22:159–60.
30. Trümper L, Pfreundschuh M. Der Zeitfaktor in der Onkologie: Spielt die Gesamtbehandlungszeit in der Chemotherapie eine Rolle? *Strahlenther Onkol* 2000;176:466–71.
31. Wilson GD. Limitations of the BrdU technique for measurement of tumor proliferation. In: Beck-Bornholdt HP, ed. Medical radiology: current topics in clinical radiobiology of tumours. Berlin: Springer, 1993:27–44.
32. Zywiets F, Reeker W, Kochs E. Tumor oxygenation in a transplanted rat rhabdomyosarcoma during fractionated irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;32:1391–400.

Korrespondenzanschrift:

Dr. Cordula Petersen, Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie und Radioonkologie, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden, Fetscherstraße 74, D-01307 Dresden, Telefon (+49/351) 458-2095, Fax -5716, E-Mail: petersen@Rcs1.urz.tu-dresden.de