

## Serie: *Hora est.* Het effect van radiotherapie op de morfologie van de orale mucosa

De behandeling van mondkanker bestaat doorgaans uit chirurgische verwijdering van de tumor, eventueel gevolgd door radiotherapie. Doel van dit promotieonderzoek was de effecten van radiotherapie op de orale weefsels, in het bijzonder de oppervlakkig gelegen epitheelcellen van het mondslijmvlies (orale mucosa) te onderzoeken. Eerder is met elektronenmicroscopisch onderzoek aangetoond dat onbestraalde orale mucosacellen bij sterke vergroting microplacae (ribbels of plooiën) bezitten. Deze microplacae vormen samen met diverse speekselcomponenten een beschermende laag, die functioneert als verdediging tegen bijvoorbeeld micro-organismen. Door radiotherapie beschadigen deze microplacae of kunnen zelfs helemaal verdwijnen. Uit het onderzoek bleek dat dit bestralingseffect zowel bij dieren als bij mensen optrad. Naarmate de radiatiedosis toenam (50 Gy of meer) was de destructie van de microplacae ernstiger. Bij een dosis van 60 Gy of meer bleken ze zelfs helemaal te verdwijnen. Dit proces zou mogelijk een belangrijke rol spelen bij het ontstaan van osteoradionecrose van de kaak en bij het verlies van tandwortelimplantaten na radiotherapie.

Asikainen PJ, Kullaa AM, Koistinen A, Schulten EAJM, Bruggenkate CM ten. Serie: *Hora est.* Het effect van radiotherapie op de morfologie van de orale mucosa. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 2018; 125: 169-171  
doi: <https://doi.org/10.5177/ntvt.2018.03.17229>

### Inleiding

Tumoren in het hoofd-halsgebied vormen wereldwijd gezien ongeveer 4% van alle tumoren. De behandeling van mondkanker wordt in belangrijke mate bepaald door de locatie en staging van de tumor en bestaat meestal uit chirurgische resectie gecombineerd met radio- en/of chemotherapie. Hoewel radiotherapie een belangrijke rol speelt in de behandeling van hoofd-halstumoren, komen bijwerkingen, zoals fibrose, chronisch oedeem, weefselatrofie of necrose, mucositis, xerostomie, trismus, bestralingscariës, candidose, osteoradionecrose en zelfs secundaire tumoren voor. Xerostomie en orale mucositis zijn de meest voorkomende en hinderlijke complicaties van de radiotherapie.

Orale rehabilitatie van kankerpatiënten met tandwortelimplantaten is een zinvolle postoperatieve procedure

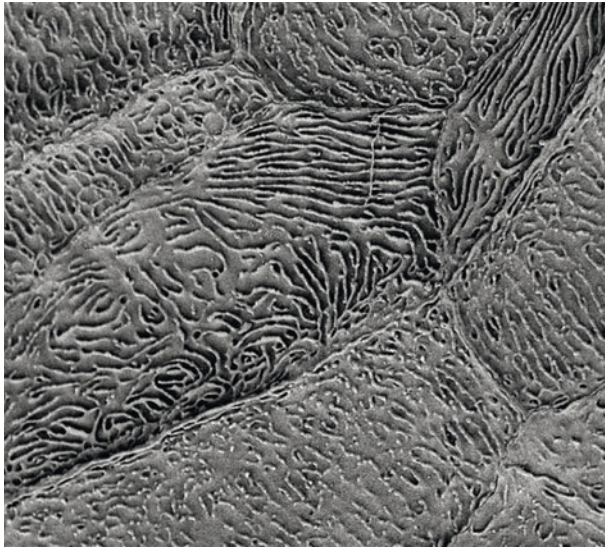
die de levenskwaliteit van de patiënt aanzienlijk verbetert. Conventionele prothetische behandeling of door implantaten ondersteunde prothetiek behoren de patiënt te worden aangeboden teneinde de kauwfunctie te verbeteren.

Echter, dentale implantaten in bestraalde weefsels blijken veelvuldig problemen te veroorzaken. Uit klinische ervaring is bekend dat deze implantaten, geplaatst in bestraald kaakbot, weliswaar goed lijken te integreren, maar na een aantal jaren plotseling falen. De reden dat implantaten bij de ene patiënt die behandeld werd met dezelfde radiatiedosis wel falen en bij de andere patiënt niet, is niet duidelijk. Alle orale weefselstructuren zijn onderhevig aan radiotherapie, maar reageren kennelijk op een verschillende wijze op radiatie.

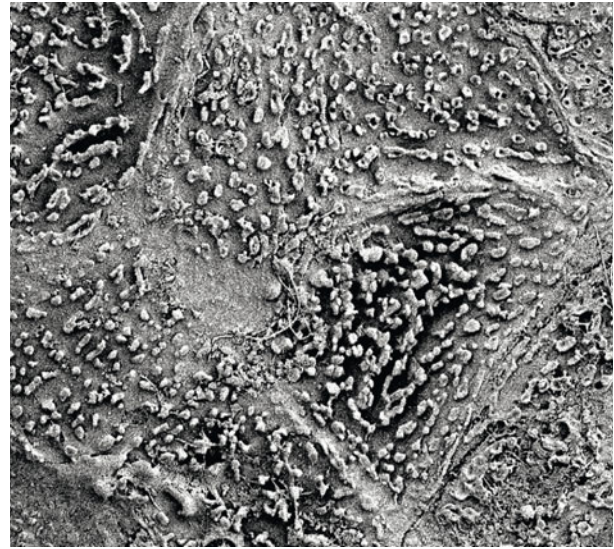
Het is onbekend of de oorzaak van de falende implantaten is gelegen in het kaakbot of in de overliggende weefsels. Om verlies van implantaten en het optreden van complicaties te vermijden, is het van groot belang de effecten van radiotherapie te onderkennen. Hoewel de ervaring met bestraald kaakbot niet eensluidend is, kan toch de trend worden waargenomen dat de huidige vorm van radiotherapie in de behandeling van hoofd-halskanker oorzaak is van diverse postoncologische complicaties. Bijkomend probleem is de toegenomen toepassing van implantaten bij de prothetische reconstructie van oncologische patiënten. Het falen van deze implantaten op termijn is op zichzelf al een probleem, maar een nog groter probleem is het risico van osteoradionecrose als gevolg van falende implantaten. Osteoradionecrose van het kaakbot is in hoge mate gecorreleerd met de radiatiedosis. Uit de internationale onderzoeksliteratuur blijkt dat een dosis van meer dan 50 Gy aanleiding geeft tot implantaatverlies en osteoradionecrose.

De effecten van radiotherapie op de orale weefsels zijn in de literatuur slechts beperkt beschreven. In de jaren 1990 publiceerden Asikainen et al reeds enige malen de effecten hiervan in dierexperimenteel onderzoek. De resultaten kwamen overeen met de ervaringen van kankerpatiënten die radiotherapie hadden ondergaan. Opvallend was dat niet alleen de benige delen waren aangedaan, maar dat er tevens opmerkelijke veranderingen aan de orale mucosa werden waargenomen. Men vond met elektronenmicroscopie dat microplacae (MPL) (kleine plooiën of ribbels op het celoppervlak) van de oppervlakkig gelegen orale mucosacellen na radiotherapie verdwenen. In dierproeven met Beagle honden bleken deze microplacae reeds na een radiatiedosis van 40 Gy te verdwijnen. Tevens werd gevonden dat dentale implantaten aanmerkelijk minder botcontact toonden bij deze radiatiedosis. Werd de dosis verder verhoogd naar 50 Gy, dan gingen alle geplaatste dentale implantaten binnen 6 maanden verloren. Deze bevindingen

Op 7 december 2017 promoveerde Pekka J. Asikainen aan de Vrije Universiteit Amsterdam op zijn proefschrift 'The effects of irradiation on the oral mucosal cell morphology. An electron microscopic study'. Promotoren waren prof. dr. C.M. ten Bruggenkate en prof. dr. E.A.J.M. Schulten. Copromotoren waren prof. dr. A.M. Kullaa en prof. dr. E. Bloemena.



**Afb. 1.** Microplacae-structuur van een onbestraalde orale mucosacel zoals te zien is met behulp van scanningelektronenmicroscopie.



**Afb. 2.** Ernstige destructie van de microplacae van een bestraalde (50 Gy) orale mucosacel zoals te zien is met behulp van scanningelektronenmicroscopie.

gen waren aanleiding om ook in een humaan onderzoek het voorkomen van microplacae en het gedrag daarvan na radiotherapie te onderzoeken.

Het orale epitheel tezamen met het speeksel en componenten daarvan vormen een complexe structuur, die de eerste verdedigingslinie vormt in de mondholte. Deze complexe verdedigingslaag bedekt het orale epitheel. De microplacae-structuur is kenmerkend voor deze oppervlakkige epitheelcellen. Hoewel deze structuur morfologisch goed beschreven is, is de functie en de fysiologische betekenis nog onbekend. Om het falen van implantaten en andere complicaties te kunnen voorspellen en derhalve te voorkomen, is een betere kennis en begrip van de microstructuur van de oppervlakkige mucosacel van groot belang.

Het doel van het onderzoek dat in dit proefschrift is beschreven, was het onderzoeken van de effecten van radiotherapie op de orale weefsels, in het bijzonder op de orale mucosa. De veranderingen van de microplacae-structuur van de oppervlakkige orale mucosacellen als gevolg van radiotherapie werden onderzocht en beschreven.

### Het proefschrift

Allereerst werd een literatuuronderzoek verricht naar de microplacae-structuur en haar functie als basis voor het verdere onderzoek. Hieruit kon worden samengevat dat de oppervlaktestructuur van de oppervlakkige orale mucosacel bedekt is met talloze ribbels, microplacae genoemd. Deze microplacae-structuur is kenmerkend voor het epitheelceloppervlak, dat bedekt is met een beschermende laag speeksel. Er vindt interactie plaats tussen de microplacae en de mucines. De rol van de microplacae-structuur van het orale celoppervlak is echter nog speculatief.

Vervolgens kon worden vastgesteld dat de oppervlakte van de oppervlakkig gelegen orale epitheelcellen bestaat uit plooi-achtige structuren, de zogenaamde microplacae, die kenmerkend zijn voor de gebieden die met beschermende mucines zijn bedekt. De speekselgel vormt een deel

van een beschermende laag tegen schadelijke invloeden. Deze laag is opgebouwd met epitheelcellen, die bedekt zijn met een vochthoudende, viskeuze gel, met een raamwerk van mucines. Deze speekselbarrière is noodzakelijk voor bescherming van de oppervlakkig gelegen epitheelcellen. De microplacae-structuur, tezamen met het Mucine Binding Protein (MBP) vormt de basis voor deze slijmbarrière.

Vervolgens werden de orale mucosabiopten van 32 gezonde proefpersonen onderzocht met scanningelektronenmicroscopie en transmissie-elektronenmicroscopie om de verschillende morfologische patronen van de diverse orale locaties vast te kunnen stellen. Er werden 3 hoofdpatronen gezien, namelijk: parallel, vertakt en puntvormig. Er werd geconcludeerd dat de microplacae-structuur essentieel is voor de functie van het orale epitheel.

In een volgend, dierexperimenteel onderzoek met Beagle honden werden de door radiotherapie geïnduceerde veranderingen van de oppervlakkig gelegen orale mucosacellen bestudeerd. In het bijzonder werd aandacht besteed aan de morfologische eigenschappen van het celoppervlak na radiotherapie. Na een radiatiedosis van 40 en 50 Gy werden onderbroken en korte microplacae als kenmerkende structuren van de bestraalde epitheelcellen gezien. In de groep die was bestraald met 50 Gy werd gezien dat de oppervlakte van de epitheelcel puntvormig was geworden. De conclusie was dat radiotherapie de oppervlakkig gelegen orale mucosacellen beschadigde.

Teneinde referentiemateriaal te verkrijgen werden vervolgens met lichtmicroscopie en transmissie-elektronenmicroscopie orale mucosabiopten van 6 gezonde patiënten onderzocht op de morfologische ultrastructuur van de oppervlakkige celmembraan en de membraangebonden mucines (ook wel MAMs genoemd), MUC1 en MUC4. Nieuw in dit verband is, dat kon worden aangetoond dat zich aan de oppervlakte van oppervlakkig gelegen orale mucosacellen membraangebonden moleculen bevinden. Verder bleek dat door plaveiselcel-epitheel van de orale mucosa

MUC1 geproduceerd wordt als verbindingsstructuur met de speeksellaag.

In het laatste deel van het promotieonderzoek werden de effecten van ioniserende straling op de microstructuur van de humane orale mucosacel onderzocht met behulp van weefselbiopten van 91 patiënten. Deze 91 patiënten waren ingedeeld in 4 groepen. Groep 1 bestond uit 28 tumor-patiënten die dentale implantaten kregen na radiotherapie. Van deze 28 patiënten ontwikkelden 2 patiënten osteoradionecrose. Groep 2 bestond uit 5 patiënten die geen dentale implantaten kregen en osteoradionecrose na radiotherapie ontwikkelden. Groep 3 bestond uit 8 patiënten die wel chirurgie ondergingen maar geen radiotherapie. Groep 4 bestond uit 50 klinisch gezonde patiënten, die als controlegroep fungeerden. De bipten werden door middel van scanningelektronenmicroscopie en kwantitatieve pixelregio-analyse onderzocht met ImageJ™ beeldanalyse software. Radiotherapie veroorzaakte breuk en destructie van de microplacaemorfologie en verminderde dichtheid van de microplacae-oppervlaktestructuur van de oppervlakkig gelegen epitheelcellen. In enkele gevallen was de microplacae-structuur geheel verdwenen, vooral bij patiënten met osteoradionecrose (groep 2). In de niet-bestraalde weefsels was de microplacae-structuur van de oppervlakkige epitheelcellen in alle gevallen (zowel niet-bestraalde patiënten als gezonde proefpersonen) intact.

### Conclusies en overwegingen

Een belangrijk resultaat van het onderzoek is dat is gebleken dat de oppervlakkig gelegen orale epitheelcellen na radiotherapie degeneratie van de microplacae-structuur tonen. De mate van schade hangt af van de radiatiedosis en kan mogelijk het risico van implantaatverlies of het optreden van osteoradionecrose bepalen. Hoewel implantaatverlies in dit promotieonderzoek niet specifiek werd onderzocht, dringt de vraag zich op wat de reden is dat implantaten bij patiënten die radiotherapie hebben ondergaan, vaak na een aantal jaren van goed functioneren uiteindelijk falen? Een toekomstige onderzoekshypothese zou kunnen zijn dat de orale epitheliale cel zijn microplacae op progressieve wijze verliest en daarmee de slijmlaag, uiteindelijk leidend tot een insufficiënt verdedigingsmechanisme. Preoperatieve diagnostiek met behulp van een mucosabiopt zou mogelijk kunnen helpen bij het beslissen of implantaten wel of niet zijn geïndiceerd bij patiënten die eerder radiotherapie hebben ondergaan.

Toekomstig onderzoek naar de klinische betekenis van het microplacae-glycocalyx/mucine-complex zou meer over de pathogenese van slecht begrepen aandoeningen zoals het drogemondsyndroom, syndroom van Sjögren (discrepancie tussen traan/speekselsvloed en subjectieve droogheid), mondbranden en radiotherapie gerelateerde complicaties (drogemondklachten bij met radiotherapie behandelde patiënten met een relatief normale speekselsvloed), bestralingscariës, bestralingsparodontitis en osteoradionecrose kunnen ophelderen.

### Literatuur

- \* Asikainen P. The effects of irradiation on the oral mucosal cell morphology. An electron microscopic study. Amsterdam: Vrije Universiteit Amsterdam, 2017. Academisch proefschrift.

Op [www.ntvt.nl](http://www.ntvt.nl)



Het volledige proefschrift is in het online-artikel beschikbaar via een link in de literatuurlijst (<https://doi.org/10.5177/ntvt.2018.03/17229>).

### Summary

#### A phd completed. The effect of radiotherapy on oral mucosa cell morphology.

*The treatment of oral cancer usually consists of surgical removal of the tumour, possibly followed by radiotherapy. The purpose of this dissertation research was to investigate the effects of radiotherapy on the oral tissues, in particular the superficially positioned epithelial cells in the oral mucosa. Earlier studies with electron microscopy revealed that unirradiated oral mucosa cells, when observed at high magnification, contain microplacae (ridges or folds). Together with various saliva components, these microplacae form a protective layer that offers defence against, for instance, microorganisms. Radiotherapy damages these microplacae and may even destroy them altogether. Studies have shown that this effect of radiation can be observed in animals as well as in humans. As the radiation dose increased (50 Gy or more) the destruction of the microplacae was more severe. With a dose of 60 Gy or more the microplacae completely disappeared. This process may play an important role in the occurrence of osteoradionecrosis in the jaw and failure of dental implants placed after radiotherapy.*

### Bron

P.J. Asikainen<sup>1,2</sup>, A.M. Kullaa, A. Koistinen, E.A.J.M. Schulten, C.M. ten Bruggenkate

Uit 1 het Institute of Dentistry van de University of Kuopio in Finland en 2 de afdeling Mondziekten, Kaak- en Aangezichts chirurgie van het Vrije Universiteit medisch centrum (VUmc) in Amsterdam

Datum van acceptatie: 23 januari 2018

Adres: dr. P.J. Asikainen, CSC Finland Oy, Tapiontori 3B, 02100 Espoo, Finland

[Pekka.Asikainen@pihljalinna.fi](mailto:Pekka.Asikainen@pihljalinna.fi)