

### **3 Therapiekonzepte des HCC**

#### **3.1 Chirurgische Therapie des HCC**

Abhängig von Tumorgröße, Lokalisation und Funktion der nicht vom Tumor befallenen Leberareale sowie Fehlen von Fernmetastasen stellt die operative Resektion die Therapie der Wahl dar. Beim HCC in einer zirrhotischen Leber muss abgeschätzt werden, ob eine Resektion eine noch ausreichend funktionsfähige Restleber übrig lassen kann. Wenn dies nicht realisierbar ist, kommt eine Lebertransplantation in Frage.

Eine chirurgische Therapie ist nur bei < 20 % aller HCC- Patienten möglich. Sie sollte nur unter kurativer Intention durchgeführt werden. Die Rezidivrate bei Patienten mit gleichzeitiger Leberzirrhose ist trotz histologisch nachgewiesener RO-Resektion allerdings extrem hoch. Über einen Fünfjahreszeitraum werden kumulative Rezidivraten zwischen 62 % und 100 % berichtet [29,30]. Häufigste Ursache für frühe Rezidive sind zum Zeitpunkt der Resektion bereits vorhandene intrahepatische Metastasen. Ein weiterer Grund für die hohe Rezidivrate nach primärer RO-Resektion liegt in dem Problem des häufig multizentrisch auftretenden HCCs, d.h. der synchronen oder metachronen Entstehung von weiteren Tumoren. Solche neue, vom Primärtumor völlig unabhängigen HCCs sind vor allem für die späten Rezidive verantwortlich [31]. Risikofaktoren für das Auftreten von intrahepatischen Metastasen sind typischerweise tumorbezogene Faktoren wie z.B. Größe des Primärtumors, Entdifferenzierungsgrad und Gefäßeinbrüche. Im Gegensatz dazu ist das Auftreten von metachronen multizentrischen Karzinomen im Wesentlichen abhängig von der Art und dem Ausmaß der primären Lebererkrankung [32,33]. Multizentrisch entstandene Karzinome unterscheiden sich von intrahepatischen Metastasen aufgrund des histologischen Bildes und ihrer molekularbiologischen Charakteristika.

Gut differenzierte HCCs führen fast nie zur intrahepatischen Metastasierung. Jedoch ist gerade bei solchen Primärtumoren mit einer peripheren Metastasierung zu rechnen. Eine entsprechende intensive prä- und intraoperative diagnostische Überprüfung der gesamten Leber ist daher unumgänglich. Wichtig im Hinblick auf eine chirurgische Therapie ist, dass die Prognose nach Resektion von mehreren multizentrisch entstandenen Tumoren gleich gut ist, wie nach Resektion eines unilokulären Tumors, sofern eine RO-Resektion erreicht werden konnte [34]. Dies gilt nicht beim Vorliegen von intrahepatischen Metastasen. Bei gut differenzierten, multizentrisch entstandenen Tumoren wird durch eine ausgedehnte Resektion unter Verlust von viel Lebergewebe die Prognose nicht verbessert. Ziel muss sein, in diesen Fällen möglichst viel Lebergewebe zu erhalten, da auch nach primärer RO-Resektion das Risiko des Auftretens von metachronen Zweitkarzinomen bei jährlich 5-10 % liegt [27]. Eine Zirrhoseleber hat ein relativ hohes onkogenes Potenzial. Dementsprechend führt eine RO-Resektion eines gut differenzierten HCC innerhalb einer Zirrhoseleber bei vielen Patienten nicht zur langfristigen Heilung.

Die Tumoresektion erfolgt mit einem Sicherheitsabstand von mindestens 1 cm im gesunden Leberparenchym. Falls dies aufgrund der Nähe von biliären oder vaskulären Strukturen nicht möglich ist, erfolgt die Kryotherapie des Resektionsrandes [40].

### **3.2 Systemische Chemotherapie**

Es existiert aktuell keine etablierte Standard-Chemotherapie. Die systemische Mono- oder Polychemotherapie des HCC mit Zytostatika alleine oder in Kombination mit Interferon  $\alpha$  führte zu keiner signifikanten Verbesserung der Überlebenszeit. Bei der kombinierten Zytostatika-Gabe traten zum Teil erhebliche toxische Nebenwirkungen auf [54]. Die mit einer zytostatischen Mono- oder Kombinationschemotherapie erzielbaren Ansprechraten betragen  $< 25\%$ . HCCs sind weitgehend chemotherapieresistent. Hierfür werden verschiedene zellbiologische und genetische Veränderungen verantwortlich gemacht, wie zum Beispiel die Überexpression des "multi drug resistance gene" mit erhöhtem Medikamentenefflux [55,56].

5-Fluoruracil war das erste beim HCC eingesetzte Chemotherapeutikum mit niedrigen Ansprechraten von c.a.  $10\%$ . Auch durch Kombinationen mit Calciumfolinat oder  $\alpha$ - Interferon konnten die Ansprechraten nicht signifikant erhöht werden [57]. Capecitabine, ein orales Fluorpyrimidin, das zu 5-Fluoruracil metabolisiert wird, konnte in einer Pilotstudie nur eine Ansprechraten von  $13\%$  erreichen [58]. Mit Gemcitabine, einem Nucleosidanalogon, konnte ebenfalls kein signifikantes Ansprechen erreicht werden [59]. Die am Anfang der 1990er Jahre durchgeführten kleinen, meist nicht randomisierte Studien mit dem Antiöstrogen Tamoxifen, beschrieben eine signifikante Verlängerung des Einjahresüberleben [60]. Jedoch konnten größere randomisierte Folgestudien diesen therapeutischen Nutzen nicht bestätigen, so dass aktuell für Tamoxifen beim HCC keine Therapieempfehlung ausgesprochen werden kann [61].

### **3.3 Lebertransplantation**

Die Langzeitprognose der Patienten mit einer Leberzirrhose und kleinem HCC ist nach einer Lebertransplantation ausgezeichnet. Bei Einhaltung strikter Kriterien hinsichtlich Tumorgröße, Tumorzahl und Differenzierungsgrad liegt die Fünfjahresüberlebensrate bei  $60-85\%$  [41].

Die Fünfjahresüberlebensrate nach Resektion entsprechender Tumoren beträgt im Gegensatz dazu aufgrund von Tumorrezidiven und Komplikationen der primären Lebererkrankung nur  $27-53\%$  [42,43]. Die Lebertransplantation löst damit das Problem von synchron oder metachron entstandenen multizentrischen Tumoren. Da eine allogene Lebertransplantation grundsätzlich eine langfristige medikamentöse Immunsuppression erfordert, führt eine solche Therapie aber bei Patienten mit einer nicht bemerkten prä- oder intraoperativen hämatogenen oder lymphogenen Tumorzellaussaat zu einem sehr schnellen Wiederauftreten von Tumoren sowohl in der Transplantatleber als auch systemisch. Diese Patienten haben eher eine schlechte Langzeitprognose. Der Übergang vom kleinen gut therapierbaren HCC zum fortgeschrittenen

Karzinom mit extrahepatischer Manifestation ist immer eine Frage der Zeit. Die sehr lange Wartezeit auf ein Lebertransplantat stellt ein besonderes Problem dar. Potenzielle Lösungsmöglichkeiten sind eine interventionelle oder auch chirurgische Tumortherapie während der Wartezeit sowie die jetzt zunehmend akzeptierte Leberlebendspende [27]. Eine klinische Studie zeigte, dass 21 HCC-Patienten aus einer Gruppe von 60 zwischen 1985 und 1991 transplantierten Patienten, welche weniger als 3 Tumorknoten von einer Größe unter 3cm und keine tumorbedingte Pfortaderthrombose hatten, eine 3-Jahres-Überlebensrate von 83 % aufwiesen. Dies ist vergleichbar mit dem Überleben von transplantierten Patienten ohne Tumorleiden. Die Ergebnisse der 60 wegen HCC transplantierten Patienten wurden mit 60 Patienten verglichen, die sich im gleichen Zeitraum einer Leberresektion wegen HCC unterzogen hatten. Das Gesamtüberleben ist ähnlich (49 % bei LTX vs. 52 % bei Leberresektion nach 3 Jahren), LTX-Patienten hatten ein signifikant höheres rezidivfreies Überleben (46 % vs. 27 %;  $p < 0,05$ ). Kleine ( $< 3\text{cm}$ ) uni- oder binoduläre Tumoren wiesen nach Transplantation im Vergleich zur Resektion ebenfalls ein besseres rezidivfreies Überleben auf (83 % vs. 18 % nach 3 Jahren). Diese Ergebnisse wurden in einer prospektiven Studie an HCC-Patienten zwischen 1992 und 1994 bestätigt. Eine Tumorgöße unter 3 cm, das Vorhandensein von weniger als 3 Tumorknoten und das Fehlen einer Gefäßinvasion waren hierbei die wichtigsten Prognosefaktoren [40].

Aufgrund der Problematik der multizentrischen Hepatocarcinogenese stellt die Transplantation die einzige Option für die komplette Entfernung aller Foci des HCCs dar. Der Anteil der Patienten, die nach den genannten Selektionskriterien für eine Transplantation in Frage kommen, ist weiterhin klein.

### **3.4 Regionale Chemotherapie**

Die lokoregionäre Therapie soll eine hohe selektive Anreicherung des Therapeutikums am Ort der Läsion (Tumor) und somit höhere Wirkstoffspiegel erreichen und gleichzeitig die systemische Belastung des Gesamtorganismus gering halten. Das ideale Zielorgan für die regionale Therapie hat eine größere zuführende Arterie mit einer einmündenden Arterie kleineren Kalibers und ist von der arteriellen Versorgung her ein Endorgan [120].

Ein stabiler Kreislauf, funktionierende Applikationsform und eine ausreichende Knochenmark-, Leber- und Nierenfunktion sind unabdingbar.

Ein nicht kurativ operierter Primärtumor, extrahepatische Metastasen, Pfortaderthrombose, starke arteriosklerotische Veränderungen, Gefäßanomalien sowie angiographisch nachgewiesene intrahepatische Shunts stellen Kontraindikationen für die lokoregionäre Therapie dar [110].

### 3.4.1 Drug Targeting

Der Begriff des "Drug Targeting" bezeichnet den zielgerichteten Arzneistofftransport zum Ort des Krankheitsgeschehens, zum Tumor. Ziel ist es, am Zielort bei möglichst geringer Gesamtbelastung eine stärkere Wirksamkeit zu erreichen, d.h. die Affinität des Therapeutikums zum Tumorgewebe zu erhöhen. Das kann zum einen über die lokoregionäre Anwendung, die zeitverzögerte Freisetzung am Therapieort durch die Chemoembolisation oder aber über die Ausnutzung eines natürlichen, zielgerichteten Transportes des Pharmakons zum Wirkort, dem Drug Targeting, erfolgen. Es gibt viele Transportsysteme: Antikörper, Peptide, Proteine, Polymere, Polysaccharide, Liposomen und Zellen [121].

Liposomen werden gegenwärtig als Arzneistoff-Carrier für maligne Erkrankungen und Infektionen des MPS entwickelt [122].

### 3.4.2 Pharmakokinetik der regionalen Chemotherapie

Ziel der regionalen Applikation ist die Erhöhung der Therapieeffizienz durch eine hohe selektive Anreicherung des Zytostatikums im Tumor bei möglichst geringer systemischer Belastung [120,116]. Das Wachstum von Tumorzellen in Abhängigkeit von der applizierten Dosis folgt einer binär logarithmischen Funktion [123]. Der therapeutische Vorteil kann mit der nachfolgenden Gleichung berechnet werden [124].

$$TV = \frac{(AUC\text{-Organ} / AUC\text{-System}) \text{ i.a.}}{(AUC\text{-Organ} / AUC\text{-System}) \text{ i.v.}}$$

TV= Therapeutischer Vorteil

AUC-Organ= Area under the curve, Zeit-Dosis-Intervall des Zielorgans

AUC-System= Area under the curve, Zeit-Dosis-Intervall des Gesamtorganismus

i.a.= intraarterielle Applikation

i.v.= intravenöse Applikation

Der therapeutische Vorteil wird demnach bei lokoregionärer Applikation durch die höhere Maximalkonzentration des Therapeutikums im Zielgebiet bei geringer systemischer Belastung im Vergleich zur systemischen Behandlung bestimmt [125].

$$R = 1 + CL_{tb} / Q_r (1 - E_r)$$

R= regionaler Vorteil

CL(tb)= systemische Eliminationsrate

Q(r)= regionaler Blutfluss

E(r)= regionale Extraktionsrate

Der regionale Vorteil gegenüber der intravenösen Applikation wird umso größer, je geringer die Blutzufuhr(Qr) zum Zielorgan ist , je schneller die Substanz aus dem Organismus (CL tb) eliminiert wird.

Da durch die meisten lokoregionären Therapieverfahren jedoch relevante Zytostatikamengen in den systemischen Kreislauf übergehen, wird die anwendbare Dosis begrenzt. Zur zusätzlichen Steigerung des regionalen Vorteils kommt es durch den first- pass- Effekt der Leber bei lokoregionärer Therapie. Denn bereits im ersten Blutumlauf wird in Abhängigkeit der verwendeten Substanz ein Teil der applizierten Dosis eliminiert. Voraussetzung für die Ausnutzung des first- pass- Effekt ist eine langsame, kontinuierliche Infusion, welche die Metabolisierungskapazität der Leber nicht überschreitet.

### **3.4.3 Intraarterielle Chemotherapie, Technik und Methode**

In der Regel erfolgt die intraarterielle Applikation transfemoral über einen in die Leberarterie platzierten Katheter. Nach erfolgter Therapie wird der Katheter entfernt.

Eine Alternative zu der Einmal-Punktion ist der MIAH- Katheter (Minimal-invasiver- Arteria-hepatica-Katheter), der perkutan in die A. subclavia eingeführt und unter angiographischer Kontrolle über die Aorta descendens selektiv in die A. hepatica vorgeschoben [129] wird.

Anschließend wird der MIAH- Katheter mit einer Portkammer verbunden, die subkutan platziert wird. Diese Methode ist vorteilhaft, da dadurch eine aufwendige laparoskopische Operation vermieden wird und bei Versagen herkömmlicher Katheter die lokoregionäre Behandlung fortgeführt werden kann.

### **3.4.4 Transarterielle Chemoembolisation**

Die TACE (transarterielle Chemoembolisation) stellt ein minimal-invasives Verfahren dar, welches standardmäßig zur Behandlung unresektabler hepatozellulärer Karzinome angewendet wird. Die TACE kann beim fortgeschrittenen HCC mit palliativer Intention durchgeführt werden. Ebenso ist es möglich, TACE mit verschiedenen lokalen Therapieverfahren zu kombinieren. Mit der transarteriellen Chemoembolisation lassen sich eine Reduktion des vitalen Tumorgewebes und eine Induktion ausgedehnter Nekrosen erreichen [44]. Hierbei gilt die Technik und Indikationsstellung für TACE beim HCC als relativ standardisiert und etabliert. Die TACE ist die Kombination einer arteriellen Infusion eines Chemotherapeutikums und der Embolisation der vaskulären Versorgung der Tumoren, wodurch eine Wirkungsverstärkung gegenüber der alleinigen Anwendung beider Verfahren erzielt werden kann. Hierbei basiert die TACE auf einer unterschiedlichen Blutversorgung der hepatozellulären Karzinome und des normalen Leberparenchyms. Während das HCC hauptsächlich über die Leberarterien mit Blut versorgt wird, erfährt das extratumorale Lebergewebe eine portalvenöse Blutversorgung [45], dadurch

kann während der Embolisation der Leberarterien ischämische Tumornekrosen unter Schonung des Leberparenchyms erzielt werden. Es werden durch die selektive intratumorale Applikation der Chemotherapeutika höhere Wirkstoffkonzentrationen im Tumorgewebe erreicht als bei einer intraarteriellen Chemotherapie. Bei der Embolisation der Arterien werden eine partielle Verstärkung der Chemotherapeutikawirkung durch Hypoxie [46] und eine erhöhte Zytostatika- Aufnahme in die Tumoren bei verlangsamten arteriellen Blutfluss erzielt [47]. Aufgrund der hohen Leberclearance ist eine deutliche Minimierung der systemischen Zytostatika- Wirkung zu verzeichnen. Nach Chemoembolisation wurden die höchsten Zytostatika- Konzentrationen in der Tumorperipherie beobachtet, gefolgt vom Tumorzentrum und dem normalen Leberparenchym. Extrahepatisch wurden nur geringe Zytostatikamengen nachgewiesen [48]. Bei der Beeinflussung der Tumorwachstumsrate zeigt die Chemoembolisation gute Ergebnisse. Schon nach der 1. Chemoembolisationsbehandlung entwickeln die meisten HCC ausgedehnte Nekrosen (> 80 %) [49]. Für die TACE steht eine Vielzahl von Pharmaka und Embolisationsmaterialien zur Verfügung. Der Verschluss der Arterien kann durch Substanzen wie Metallspiralen, Dura mater, Gelatineschaum, ölige Substanzen (Lipiodol), Microsphären oder Kollagene erzielt werden. Bei der intraarteriellen Applikation reichert sich Lipiodol selektiv in Lebermalignomen an [50,51]. Lipiodol wird aufgrund seiner selektiven und diagnostisch verwertbaren Speicherung auch als Kontrastmittel verwendet. Bei der Behandlung der HCC resultieren nach repetitiven Behandlungen nachweislich längere Überlebenszeiten als nach einmaliger Behandlung [52]. Bei einem Ansprechen auf die TACE mit Überführung primär inoperabler Patienten in eine Operabilität mit anschließender Laserablation der Herde wird die TACE mit neoadjuvanter Indikationsstellung durchgeführt. Die Herde sollten eine Größe von 7 cm nicht überschreiten.

### **Kriterien zur Auswahl der Patienten für die TACE bei HCC**

Einschluss	Kontraindikation für Chirurgie Kontraindikation für lokal ablativ Verfahren Vorbereitung für Transplantation Neoadjuvant vor Tumorresektion/-ablation
Ausschluss	Tumorbefall der Leber von über 75 % Extrahepatische Metastasen Schlechter Allgemeinzustand Child- Pugh- Stadium C Okuda- Stadium III Reduzierte Leberfunktion (Quick < 40 %, PTT < 45 %, Albumin < 2g/dl)

Schwere Allgemeinerkrankung  
 Obstruktiver Ikterus (Bilirubin i.S.> 3,0 mg/dl)  
 Zeittumor mit schlechter Prognose

Klinisch findet die transarterielle Chemoembolisation bei HCC am häufigsten mit palliativer Indikationsstellung Anwendung. Für den palliativen Einsatz der TACE gelten multiple Leberherde mit ausgedehnter Größe als Indikation, die nicht vollständig reseziert werden können. Aufgrund der lokalen Beschränkung der Effektivität der TACE sollte der Befall der Leber dominieren. Vor Lebertransplantation oder Leberresektion kann die TACE zur Verlängerung des progressivfreien Intervalls durchgeführt werden [53]. Eine Einschränkung der Effektivität der TACE kann jedoch auch durch die Tumorcharakteristik, insbesondere bei großen Läsionen, erfolgen. Die peripher gelegenen HCCs weisen häufig eine duale arterioportale Neovascularisation auf, welche den Zelltod im Randbereich des Tumors bei einer Embolisation der hauptversorgenden Arterie limitiert [44].

### 3.4.5 Einteilung der Liposomen und Pharmakokinetik

Liposomen sind kleine, kugelförmige Vesikel aus konzentrisch angeordneten Lipiddoppelschichten (Bilayer), welche sowohl hydrophile Stoffe in der wässrigen Innenphase bzw. den Bilayerzwischenräumen als auch lipophile Stoffe innerhalb der Bilayer transportieren können. Als Hauptkomponente tritt meist Phosphatidylcholin (Lecithin) auf. Sie entstehen selbst durch Selbstassoziation von Amphiphilen (i.d.R. Phospholipiden) im wässrigen Milieu. Häufig werden Liposomen bezüglich ihrer Lamellarität und Größe unterschieden.

Man unterscheidet:

SUV = small unilamellar vesicles, kleine unilamelläre Vesikel

Sie weisen einen Durchmesser von etwa 20-100nm auf

LUV = large unilamellar vesicles, große lamelläre Vesikel

MLV = multilamellar vesicles

MVV = multivesicular vesicles

LUV, MLV, MVV haben einen Durchmesser von einigen hundert Nanometer bis mehreren Mikrometern. Die Membrandicke einer aus Phospholipiden bestehenden Doppelschicht beträgt etwa 5 bis 6 nm.

Die Verkapselung der Arzneimittel in Liposomen schützt diese vor raschem Abbau in vivo und

setzt sie über eine größere Zeitspanne hinweg im Körper frei (bis zu einigen Tagen) [126].

Die Liposomen zeichnen sich für ihre Anwendung als in vivo- Transportvesikel unter anderem durch eine große Variabilität der physikalischen Eigenschaften (z.B. Lipidzusammensetzung und Membranfluidität, Größe, Oberflächenladung) aus. Die Tatsache, dass die Hauptkomponenten der Liposomen mit Phospholipiden und Cholesterol natürliche Bestandteile der Säugetierzellmembranen sind, bedingt eine normale Metabolisierung, geringe Toxizität sowie fehlende Immunogenität und gute Biokompatibilität im Rahmen einer systemischen Applikation. Der Einbau spezieller Lipidderivate ermöglicht die Verlängerung von Zirkulationshalbwertszeiten und eine erhöhte Extravasation. Dem Arzneistoff bietet die liposomale Verpackung Separation und Stabilisierung, seine Verteilung im Organismus ist durch den Einschluss unabhängig von seinen physikalisch- chemischen Eigenschaften.

Bei der Anwendung von Liposomen als Arzneistoffvehikel ist zwischen einem indirektem (passiven) oder direktem (aktiven) Targeting zu differenzieren. Die Hauptvariante des passiven Targetings ergibt sich bereits aus der Natur der Liposomen als körperfremde Strukturen und der daraus resultierenden Anreicherung in Zellen des MPS (mononuklearer phagozytäres Systems).

Ein passives Targeting ist des weiteren durch das permeable Gefäßsystem einiger solide Tumore (Lücken zwischen den Endothelzellen, fehlende Basalmembran, fehlendes umgebendes Muskelgewebe) sowie das Kapillarbett der Lunge möglich.

Ein direktes Targeting setzt die Funktionalisierung der Liposomen mit spezifischen Liganden voraus, welche über eine Bindung an Oberflächenstrukturen auf den Zielzellen eine Anreicherung der Liposomen am Wirkort ermöglichen. Neben Kohlenhydratstrukturen, Peptiden, Hormonen, Lektinen und Immunogenen stellt die Verwendung von Antikörpern als Liganden die aussichtsreichste Strategie dar. Denn diese zeichnen sich durch ihre hohe Spezifität, hohe Affinität zur entsprechenden Zielstruktur und Biokompatibilität aus, des weiteren durch ihre extreme Varianz (hinsichtlich des Zielantigens) bei gleichbleibender, gut untersuchter chemischer Struktur, wodurch wiederum die Anwendung einheitlicher, optimierter Kopplungsmethoden ermöglicht wird.

Normalerweise werden die Liposomen, wie alle Fremdkörper, so schnell wie möglich durch die Zellen des MPS aus dem Blut entfernt. Dabei werden die Liposomen durch Plasma- Proteine opsoniert [127]. Offensichtlich existieren zwei Phasen bei der Eliminierung der Liposomen aus der Blutzirkulation: der Bindungsprozess und das Recycling. Die Fähigkeit der Kupffer- und anderer MPS- Zellen, Teile aus der Blutzirkulation innerhalb einer bestimmten Zeitspanne zu entfernen, ist einerseits abhängig von der Menge der erkennenden, bindenden und aufnehmenden Stellen, die damit besetzt und nicht für die weitere Liposomenaufnahme verfügbar sind und andererseits abhängig von der Anzahl der recycelten bzw. wiederhergestellten Bindungs- und Aufnahmestellen. Viele Autoren, wie auch Allen und Hansen

(1991) [81] konnten zeigen, dass die Erkennung, Bindung und Aufnahme konventioneller Liposomenformulierungen relativ rasch mit Halbwertzeiten von einigen Minuten geschieht, und zwar umgekehrt proportional zur Liposomengröße, d.h. je kleiner der Liposomendurchmesser wie bei SUV- Liposomen, desto langsamer werden sie abgebaut und zirkulieren länger im Kreislauf. Es wird vermutet, dass das Erkennungs- und Bindungsgeschehen einen hohen Affinitäts-/niedrigen Kapazitätsprozess darstellt, und dass das Recycling von Bindungsstellen und mögliche Rekrutierung neuer MPS-Zellen auf die Höhe der Kapazität Einfluss hat. Das bedeutet, dass es bei Konfrontation des MPS mit einer großen Menge an Liposomen zu einem Sättigungseffekt kommt, der den "überschüssigen" Liposomen eine verlängerte Zirkulation im Gefäßsystem erlaubt, womit die Wahrscheinlichkeit einer Aufnahme durch die Hepatocyten steigt.

### **3.4.6 Wahl des Liposomentypes**

Für die vorliegende Arbeit wurden die SUV- Liposomen als Vehikel für das Chemotherapeutikum (Taxol®) verwendet, das intravenös und intraarteriell sowie intraarteriell in Kombination mit einem Embolisat (DSM) appliziert wurde.

Durch gezielte Modifikation der Liposomenzusammensetzung kann ein möglichst hoher Zytostatikum-Spiegel in der Tumorzelle bei größtmöglicher Schonung des gesunden Lebergewebes erreicht werden.

Generell sinkt die Halbwertzeit der konventionellen Liposomen mit zunehmendem Durchmesser, negativer Ladungsdichte und abnehmender Membranstabilität. Damit ist für diese Liposomen eine maximale Halbwertzeit nur über Nutzung von SUV möglich, da sie den kleinsten Durchmesser haben und durch ihren Membranaufbau die größte Membranstabilität aufweisen. Sie bestehen aus Distearoyl- Phosphatidylcholin oder -Sphingomyelin und Cholesterol, welche eine feste, neutrale Doppelmembran liefert.

Für die Embolisation wurde Spherex® (Biologically degradable starch microspheres, DSM) genutzt. Dieses Embolisat besteht aus Stärkekügelchen bis 60 µm im Durchmesser, die eine temporäre mechanische Blockade des arteriellen Flusses auf der Verschlussebene von Arteriolen verursachen. Sie werden durch Serumamylase mit einer Halbwertzeit von 15 bis 30 min. abgebaut [128]. Die Applikation erfolgt im Sinne einer Chemoembolisation intraarteriell in Suspension mit Taxol®.

### **3.4.7 Herkunft und Herstellung der Paclitaxel- SUV-Liposomen**

In einem Rundkolben werden Phosphatidylcholin (Lipoid) und Taxol® in Chloroform gelöst. Das Chloroform wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Lipidfilm an einer Vakuumpumpe getrocknet. Danach wird der Lipidfilm mit physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Der Ansatz wird über Nacht geschüttelt.

Nach dem Schütteln werden die entstandenen Liposomen 4 x 4 min mit einem Ultraschallgenerator (Branson Sonifier; Frequenz 50-60 Hz) unter Eiskühlung intermittierend beschallt.

Die Liposomensuspension wird 20 min. bei 3000 U/min zentrifugiert.

Der entstandene Titanabrieb wird entfernt.

### **3.5 Die Rolle von Taxanen bei der Behandlung des HCC**

#### **3.5.1 Paclitaxel**

Die Entdeckung von Paclitaxel (Taxol®), ist das Ergebnis eines groß angelegten Suchprogramms, das 1960 vom National Cancer Institute (NCI) der Vereinigten Staaten eingeleitet und gefördert wurde und das sich dem Ziel verschrieben hatte, bislang unbekannte Naturstoffe mit therapeutisch nutzbarer antineoplastischer Wirkung zu identifizieren. Es handelt sich um ein äußerst kompliziertes Molekül aus der Stoffgruppe der Diterpene. Paclitaxel ist ein zyklisches Diterpen, das aus der Rinde und Nadeln der pazifischen Eibe gewonnen wird. Das Grundgerüst des Paclitaxelmoleküls besteht aus 20 Kohlenstoffatomen, die drei miteinander verknüpfte Ringe bilden. Daran schließen sich ein ungewöhnlicher sauerstoffhaltiger Viererring (Oxetanring) sowie eine voluminöse, für die Wirksamkeit der Substanz essenzielle Esterseitenkette an. Paclitaxel ist extrem hydrophob und löst sich kaum in Wasser auf. Das Problem wurde durch Zusatz des Lösungsvermittlers Cremophor EL gelöst, einem Polyethylenglycolester der Ricinolsäure, der Hauptfettsäure des Rizinusöls. Das handelsübliche Infusionslösungskonzentrat enthält außerdem ca. 50 % Ethanol [1].

#### Wirkmechanismus:

Paclitaxel lagert sich reversibel und dosisabhängig im Verhältnis 1:1 an das Tubulin der bereits aufgebauten Mikrotubuli an.

Mikrotubuli sind dünne, starre, fadenförmige Zell-Strukturen, die in allen kernhaltigen Zellen vorkommen. Sie sind Bestandteile der mitotischen Spindeln und haben zusätzliche Funktionen, wie z.B. zelluläre Motilität, intrazellulärer Transport und Sekretion von Neurotransmittern. Ultrastrukturell sind Mikrotubuli Hohlzylinder, deren Wand aus 13 in Längsrichtung parallel und konzentrisch um die Zylinderachse angeordneten Protofilamenten besteht. Jedes Protofilament stellt eine Aneinanderreihung von Tubulinmolekülen dar. Tubulin ist ein Protein, das aus zwei Untereinheiten, also Polypeptiden (alpha und beta) aufgebaut ist. Paclitaxel bindet speziell an die  $\beta$ -Untereinheit des Tubulins und reduziert somit die für die Depolymerisierung kritische bzw. erforderliche Konzentration des Tubulin. Damit kippt das Gleichgewicht in Richtung der Polymerisation, das Wachstum der Mikrotubuli wird beschleunigt, und der Zellpool an freien Tubulin erschöpft sich [2,3].

Paclitaxel fördert die Stabilität der verkürzten und funktionsgestörten Mikrotubuli, die dann etwa 10-mal biegsamer sind als unter normalen Umständen [4].

Es fördert die Bildung von abnormen Mikrotubulus-Strukturen. Die Ausbildung eines funktionsfähigen Spindelapparats während der Mitose wird gestört. Es kommt zu Chromosomenbrüchen, der Zellteilungsvorgang wird extrem verlängert oder kann nicht zu Ende geführt werden. Es kommt zum Verharren der Zellen in der G2/M-Phase des Zellzyklus oder viele Zellen versuchen in die G1-Phase zurückzukehren, um sich erneut zu teilen.

#### Aktivität in vitro und in vivo:

Taxol® hemmte die meisten etablierten humanen Tumorzelllinien in ihrem Wachstum: Ovarial-, Mamma- und Zervixkarzinom, Pankreaskarzinom, Prostata- und Blasenkarzinom, Magen- und Kolonkarzinom, Bronchialkarzinom, Plattenepithelkarzinom des Kopf- und Halsbereichs, Leberzellkarzinom, Melanom, Leukämie, Neuro- und Medulloblastom sowie Astrozytom [5].

Die In vitro-Untersuchungen zeigten eine Zunahme der zytotoxischen Wirkung mit Verlängerung der Inkubationsdauer, das sich aus der phasenspezifischen Wirkung von Taxol® erklären ließ. Zellen der Mitosephase sind empfindlicher als solche in der Interphase. Zusätzlich zeigten die Versuche mehrheitlich eine Zunahme der wachstumshemmenden und letalen Wirkung mit steigender Konzentration von Taxol®.

Die In vivo-Experimente wurden an menschlichen, auf Nacktmäuse transplantierten soliden Tumoren vorgenommen. Taxol® wurde in der üblichen Darreichungsform mit Cremophor EL und Ethanol intravenös, subkutan oder intraperitoneal injiziert.

Zur vollständigen Tumorrückbildung kam es bei einigen Mäusen mit subkutan transplantierten menschlichen Glioblastomen (9-20 %), Mammakarzinomen (80 %), Bronchialkarzinomen (14 %) und Zungenkarzinomen (17 %) [6,7].

Taxol® war auch gegen Ovarialkarzinomzelllinien, intravenös und intraperitoneal appliziert, wirksam.

#### Resistenz:

Einige Krebszellen oder Krebszelllinien entwickeln gegen Taxol® eine Resistenz. Dies könnte 1. durch den hydrophoben Charakter 2. durch die vermehrte Expression des mdr-1-Gens vermittelt sein. Mdr steht für "multi drug resistance" und kennzeichnet den Umstand, dass dieses Gen für die "Gruppenresistenz" von Zellen gegen eine Vielzahl giftiger Naturstoffe und Zytostatika verantwortlich ist. Mdr-1 enthält die Bauanleitung für das phosphorylierte P-Glykoprotein (p170) in der Zellmembran. Dieses Molekül sorgt für das Heraustransportieren zellschädigender Substanzen aus der Zelle, so dass die Konzentration der Fremdstoffe intrazellulär niedrig gehalten wird.

Auch eine Änderung an der  $\alpha$ - und oder  $\beta$ -Untereinheit des Tubulins kann eine Taxol®

-Resistenz hervorrufen.

#### Strahlensensibilisierende Wirkung von Taxol®

Es konnte in vivo und in vitro eine wechselseitige Wirkungsverstärkung von ionisierenden Strahlen und Taxol® an vielen Tumorzellen nachgewiesen werden, u.a. an den menschlichen Zelllinien Mammakarzinom MCF-7 und Zervixkarzinom Ca Ski [8]. Die Akkumulation der strahlenempfindlichen Zellen in der G2/M-Phase wird nicht als die alleinige Ursache der Wirkungsverstärkung angesehen, denn an einer Bronchialadenokarzinom- Zelllinie wurde trotz Akkumulation der Zellen in der G2/M-Phase keine strahlensensibilisierende Wirkung beobachtet [9].

#### Pharmakokinetik:

Taxol® zeigt eine nichtlineare Pharmakokinetik und eine hohe interindividuelle Variabilität: bei einer intravenösen Infusion von Taxol® über 3- 24 Stunden, steigt die Plasmakonzentration während der Infusion anfangs rasch, danach langsamer, aber stetig an.

Die maximale Plasmakonzentration (C max) werden am Ende der Infusion erreicht. C max ist umso größer, je kürzer die Infusionsdauer ist.

Die C max- Werte und die Flächen unter den Plasmakonzentrations- Zeit- Kurven (AUC=  $\mu\text{mol} \times \text{l} \times \text{h}$ ) stiegen im Dosisbereich von 120-300 mg/m<sup>2</sup> bei 3-,6- oder 24-stündiger Dauerinfusion zwar dosisabhängig an, jedoch nicht linear.

Taxol® hat eine hohe Plasmaeiweißbindung von 88-98 %, vor allem an Albumin und saures Alpha 1-Glykoprotein, wird jedoch sehr rasch aus dem Plasma eliminiert. Die Halbwertszeit beträgt eine halbe Stunde, die  $\beta$ -Eliminationshalbwertszeit wenige Stunden. Das Verteilungsvolumen im steady- state beträgt über 50 Liter.

Taxol® verteilt sich bei Nagetieren in vielen Geweben, vor allem in der Leber, Lunge, Milz, Pancreas, Nebenniere, Speicheldrüsen, Magen, Dünndarm, Herz, Muskulatur und in den Nieren. Taxol® durchdringt kaum die Blut-Hirn-Schranke.

Die systemische Clearance von Taxol® lag nach einer 3- bis 24-stündigen intravenösen Infusion und Dosen von 15- 275 mg/m<sup>2</sup> zwischen 8 und 23,6 l/h/m<sup>2</sup>. Es besteht keine Dosisabhängigkeit, die renale Clearance ist vernachlässigbar gering.

Taxol® wird Zum größten Teil in der Leber verstoffwechselt und biliär eliminiert.

#### Wechselwirkungen mit anderen Zytostatika:

In klinischen Studien wurde Taxol® mit verschiedenen Zytostatika kombiniert : bei der Kombination von Taxol® mit Cisplatin war eine Abnahme der Taxol® -Clearance um 25-33 % und eine höhere Inzidenz von Neutropenien zu verzeichnen, wenn Cisplatin vor Taxol® verabreicht wurde [10]. Aus diesem Grund wird bei dieser Kombination empfohlen, zuerst Taxol® zu verabreichen.

Taxol® wird in der Zukunft häufig mit Carboplatin verabreicht werden, da diese Kombination eine hohe Antitumorwirkung (vergleichbar mit Taxol® + Cisplatin) aufweist und gleichzeitig sehr gut verträglich ist, auch bei ganz unterschiedlichen Dosierungen und Applikationsschemata. Ein weiterer Vorteil ist die individuelle Dosierbarkeit des Carboplatins (nach Maßgabe der gewünschten Ziel- AUC), so dass sich die hämatologischen Nebenwirkungen- insbesondere die Thrombozytopenie besser steuern lassen. Dies ist möglich, weil die Carboplatin- Clearance aufgrund der überwiegend renalen Ausscheidung dieses Zytostatikums sehr eng mit der individuellen glomerulären Filtrationsrate (GFR) zusammenhängt. GFR ist klinisch mühelos durch das Serumkreatinin ermittelbar.

#### Nebenwirkungen:

In den klinischen Studien wurden viele Nebenwirkungen beobachtet, so kann es zu akuten allergischen und kardiotoxischen Reaktionen kommen, die eine sofortige Intervention erfordern. Diese Nebenwirkungen erscheinen insbesondere im Hinblick auf den ambulanten Einsatz von Taxol® am wichtigsten.

#### Hämatologische Toxizität:

Als dosislimitierende Nebenwirkung von Taxol® erwies sich die Myelotoxizität, vor allem Neutropenie und Leukozytopenie. Die Neutropenie setzt typischerweise am 8.Tag ein, erreicht bis zum 11. Tag den Nadirwert und bildet sich in der Regel zwischen der 2. und 3.Woche wieder zurück. Infektionen werden trotz der häufigen Neutropenien relativ selten beobachtet, wahrscheinlich weil Taxol® bei der heutigen Dosierung und Applikationsform nur eine geringe schleimhautschädigende Wirkung besitzt, wodurch der Übertritt von Keimen aus dem Darm in die Blutbahn eingegrenzt wird.

Durch Taxol® hervorgerufenen Anämien und Thrombozytopenien sind im Vergleich zur Neutropenie vernachlässigbar.

#### Überempfindlichkeitsreaktionen:

Die allergischen Reaktionen stellten in den 80er Jahren das größte Problem dar. Bei den Allergien handelt es sich um Sofortreaktionen vom Typ 1, die zumeist innerhalb weniger Minuten nach dem Start der Taxol® -Infusion mit Atemnot, z.T. auch Bronchialspasmen, mit allergischen Hauterscheinungen (Urtikaria, Exanthem, Gesichtsrötung) und selten mit Blutdruckabfall einhergingen. Möglicherweise sind die allergischen Reaktionen nicht auf Taxol® selbst, sondern auf den Lösungsvermittler Cremophor EL zurückzuführen. Die allergischen Reaktionen hat man heute durch routinemäßige antiallergische Prophylaxe (mit einem oralen Kortikoid und intravenös verabreichten Antihistaminika) gut in den Griff bekommen.

#### Neurologische Toxizität:

Die neurologische Toxizität zeigt sich als periphere Neuropathie, die sowohl die sensorischen (Schmerz, Temperatur) als auch die motorischen Fasern betrifft, ferner als autonome Neuropathie, Myopathie und selten in Form zentralnervöser Störungen.

Die wichtigste neurologische Nebenwirkung ist die sensorische Neuropathie, die zumeist nach Dosen über 170 mg/m<sup>2</sup> auftritt und sich in Kribbeln, Taubheitsgefühl und Brennen in den Extremitäten (Handschuh-/Strumpf-Typ) äußert. Klinisch sind Abschwächung von Propriozeption, Vibrations-, Temperatur- und normalem Schmerzempfinden sowie eine Abschwächung tiefer Sehnenreflexe zu beobachten, die innerhalb von 2-3 Tagen nach der Verabreichung einsetzen und sich binnen weniger Monate zurückbilden.

Die motorischen Neuropathien sind oft asymptomatisch. Nach hohen Dosen über 200 mg/m<sup>2</sup> wurden auch Myalgien und Arthralgien beobachtet, wobei zumeist die Schulter- und paraspinale Muskulatur betroffen waren.

#### Kardiotoxizität:

Die Ursache und der Mechanismus der kardialen Nebenwirkungen von Taxol® sind bis jetzt noch ungeklärt. Zwar sind bei Vergiftungsunfällen nach Genuss von Pflanzenteilen der Eibe kardiotoxischen Nebenwirkungen beobachtet worden, jedoch könnte auch der Lösungsvermittler Cremophor EL oder auch die Kombination von Taxol® und Vehikel für die kardiotoxischen Effekte verantwortlich sein.

Die kardiotoxischen Nebenwirkungen von Taxol® bleiben im Allgemeinen klinisch inapparent und sind nicht behandlungsbedürftig.

In seltenen Fällen kann es vor allem zu asymptomatischen Bradykardien, aber auch zu ventrikulären Herzrhythmusstörungen, atrioventrikulären Überleitungsstörungen, Schenkelblocks und Myokardischämien kommen.

#### Sonstige Nebenwirkungen:

Haarausfall, Mukositis, Übelkeit, Erbrechen

#### Taxol® - Klinische Erfahrungen:

Die Entwicklung der letzten 10 Jahre gibt Berechtigung zu der Feststellung, dass sich Taxol® beim Ovarialkarzinom, beim Mammkarzinom und beim nichtkleinzelligen Bronchialkarzinom als Kombinationspartner der Standardtherapie sowohl in metastasierenden Erkrankungsstadien als auch in der adjuvanten Therapie etabliert hat.

Bei der Behandlung des rezidierten und platinresistenten bzw. -refraktären Ovarialkarzinoms gehört Taxol® zweifellos zu den wirksamsten Zytostatika. Einige klinische Studien haben gezeigt, dass Taxol® als Monotherapie weniger wirksam ist als in Kombination mit Cisplatin.

Auf ein Platinderivat in der primären Chemotherapie des fortgeschrittenen Ovarialkarzinoms kann daher auch in der Zukunft nicht verzichtet werden.

Die klinischen Studienergebnisse mit Taxol® in der neoadjuvanten Therapie deuten darauf hin, dass von der hohen Aktivität dieses Zytostatikums auch Patientinnen im lokal fortgeschrittenen, noch nicht metastasierten Stadium eines Mammakarzinoms profitieren können. Durch die Einbeziehung von Taxol® hat die adjuvante Chemotherapie des Mammakarzinoms nach langer Stagnation nun endlich neue, zukunftsweisende Impulse erhalten.

Sowohl in fortgeschrittenen Stadien mit palliativer Therapieindikation als auch in frühen Stadien des Bronchialkarzinoms lassen sich durch die paclitaxelhaltige Kombinationstherapie überdurchschnittlich gute klinische Ergebnisse dokumentieren, so dass international die Kombination aus Taxol® und Platin beim fortgeschrittenen nichtkleinzelligen Bronchialkarzinom als Standardtherapie gilt.