

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Intravenöse Applikation von Taurolidin bei fortgeschrittenen Tumoren in der konventionellen Chirurgie

#### 4.1.1 Das intraperitoneale Tumorgewicht

Das intraperitoneale Tumorgewicht der Tiere, bei denen Taurolidin in den verschiedenen Konzentrationen intravenös appliziert wurde (Gruppen 1 – 4), unterschied sich sowohl in der 2% Taurolidgruppe als auch in der 3% Taurolidgruppe von dem der Kontrolltiere ( $p^* = 0.034$ ,  $p^{**} = 0.05$ , Abbildung 3).

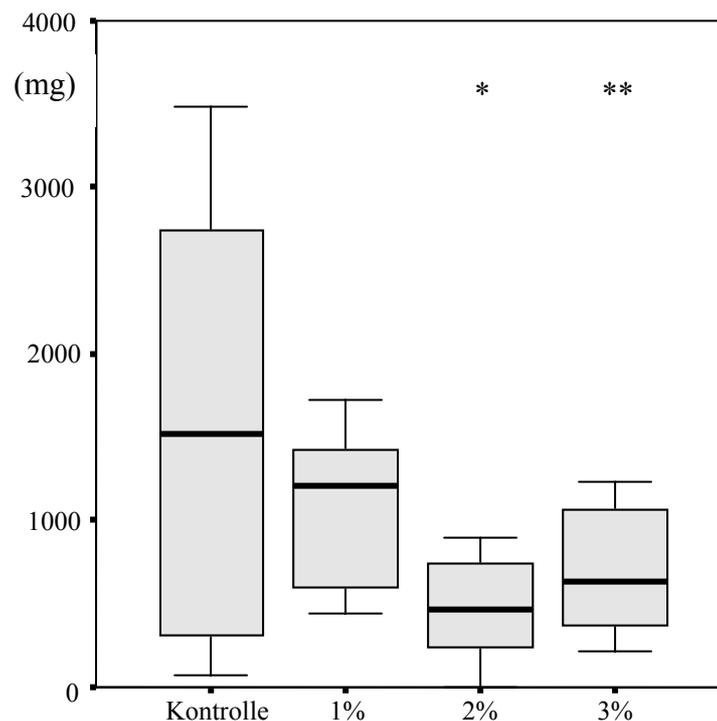


Abbildung 3. Das intraperitoneale Tumorgewicht (mg) nach dreimal täglicher intravenöser Taurolidinapplikation über den Therapiezeitraum von einer Woche ( $p^* = 0.034$ , 2% Taurolidin i.v. vs. Kontrolle;  $p^{**} = 0.05$ , 3% Taurolidin i.v. vs. Kontrolle, n je Gruppe = 10).

Die intravenöse Applikation von 2% Taurolidin (Median 473 mg, 90% Konfidenzintervall: 291 - 649 mg) bewirkte eine signifikante Reduktion des intraperitonealen Tumorwachstums im Vergleich zur Kontrollgruppe (Median 1524 mg, 90% Konfidenzintervall 792 - 3129 mg,  $p^* = 0.034$ ). Ebenso vermochte die Therapie mit 3% Taurolidin i.v. (Median 631 mg, 90% Konfidenzintervall 466 - 882 mg) das Tumorwachstum gegenüber der Kontrollgruppe zu senken ( $p^{**} = 0.05$ ). Die Langzeittherapie mit intravenös appliziertem Taurolidin 1% (Median 1212 mg, 90% Konfidenzintervall 845 - 1384 mg,  $p = 0.59$ ) bewirkte keinen Unterschied im Vergleich zur Kontrolle. Der Extremwert von 6542 mg in der Kontrollgruppe ist in der Grafik nicht dargestellt.

#### 4.1.2 Die Anzahl intraperitonealer Tumorknoten

Die Anzahl der intraperitonealen Tumorknoten in den jeweiligen Therapiegruppen unterschied sich im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht ( $p =$  nicht signifikant ( $p = ns$ ), Abbildung 4).

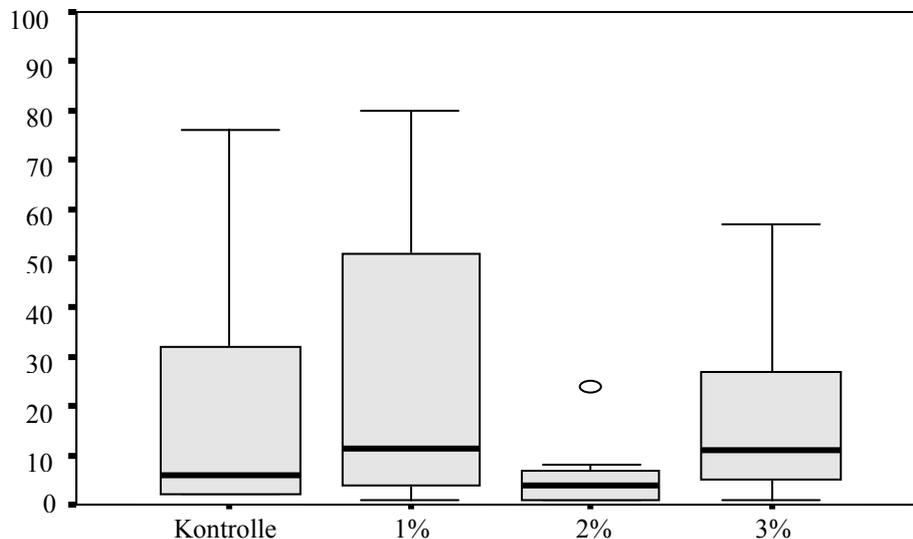


Abbildung 4. Die Anzahl intraperitonealer Tumorknoten nach achtstündlicher intravenöser Taurolidinapplikation über den Zeitraum von einer Woche ( $p = ns$ , NPAR Test Mann-Whitney,  $n$  je Gruppe = 10).

Ebenso wie bei dem intraperitonealen Tumorgewicht fanden sich in den Therapiegruppen, bei denen Taurolidin intravenös appliziert wurde, die geringsten Werte für die intraperitoneale Tumoranzahl bei der Taurolidin 2% - Gruppe (Median 4 Tumorknoten, 90% Konfidenzintervall 1-11). Bei einem Tier in dieser Gruppe wurden 24 Tumorknoten gezählt. Allerdings ergab der Vergleich zu den anderen Therapiegruppen (Kontrolle: Median 6 Knoten, 90% Konfidenzintervall 4-34,  $p = 0.24$ ; 1%: Median 12, 90% Konfidenzintervall 7-40,  $p = 0.1$ ; 3%: Median 11 Tumorknoten, 90% Konfidenzintervall 7-32,  $p = 0.09$ ) keine statistischen Unterschiede.

#### 4.1.3 Das subkutane Tumorgewicht

Das subkutane Tumorgewicht unterschied sich in den einzelnen intravenösen Therapiegruppen nicht (Abbildung 5). Bei der weiteren Untersuchung fiel auf, dass das subkutane Tumorgewicht die geringsten Werte und die kleinste Streubreite in der Taurolidin 2%-Gruppe (Median 381 mg, 90% Konfidenzintervall 40 – 2868 mg) aufwies. Bei einem Tier in dieser Gruppe wurden 5945 mg gemessen. Allerdings zeigten sich weder gegenüber der Kontrollgruppe (Median 655 mg, 90% Konfidenzintervall 645 – 3417 mg,  $p = 1.0$ ), der Taurolidin 1%-Gruppe (Median 1324 mg, 90% Konfidenzintervall 589 – 5096 mg,  $p = 0.4$ ) noch der Taurolidin 3%-Gruppe (Median 3215 mg, 90% Konfidenzintervall 2002 – 7059 mg,  $p = 0.06$ ) statistisch signifikante Unterschiede, wobei sich jedoch ein Trend in der Statistik abzeichnete. Die höchsten Werte für den Median beziehungsweise für die Streubreite (90% Konfidenzintervall) fanden sich in der Taurolidin 3%-Therapiegruppe.

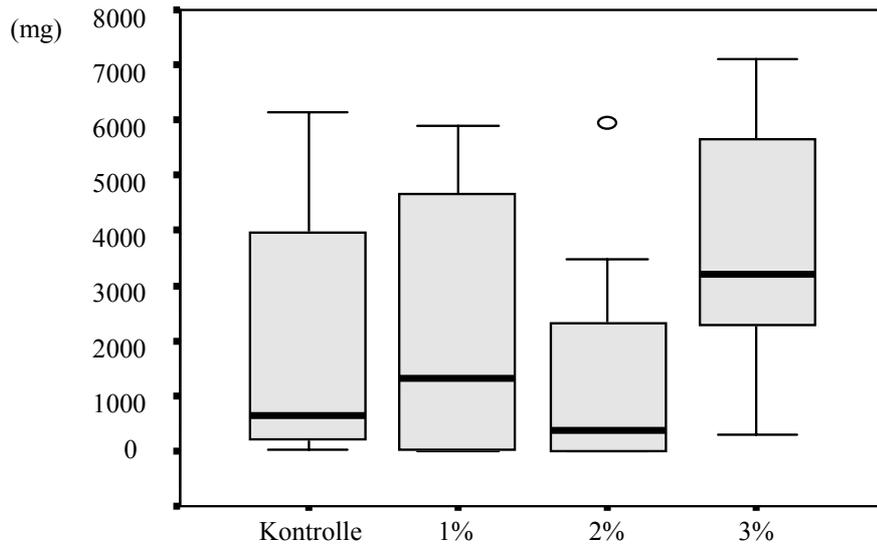


Abbildung 5. Das subkutane Tumorgewicht in mg bei achtstündlicher, intravenöser Taurolidinapplikation über den Zeitraum von einer Woche ( $p = ns$ , NPAR Test Mann-Whitney,  $n$  je Gruppe = 10).

#### 4.1.4 Die Anzahl subkutaner Tumorknoten

Bei allen Tieren, bei denen sich subkutanes Tumorwachstum nachweisen ließ, fand sich unabhängig von der Therapiegruppe jeweils ein einzelner abgrenzbarer Tumor ( $p = ns$ , keine Abbildung).

#### 4.1.5 Die Gewichtsveränderung im Therapiezeitraum

Zur Auswertung des Einflusses unterschiedlicher Taurolidinkonzentrationen auf das Wachstum der Tiere wurde aus den Messdaten die relative Gewichtsveränderung in % über den Infusionszeitraum (Portimplantation bis Portexplantation) berechnet, um Fehler, die sich durch differierende Initialgewichte ergaben, zu minimieren (siehe Material und Methoden, Abb. 2).

Auffallend war eine geringe Wachstumsretardierung bei allen Tieren in jeder Therapiegruppe, die sich in einer geringen prozentualen Gewichtsreduzierung im Therapiezeitraum bemerkbar machte (Abbildung 6).

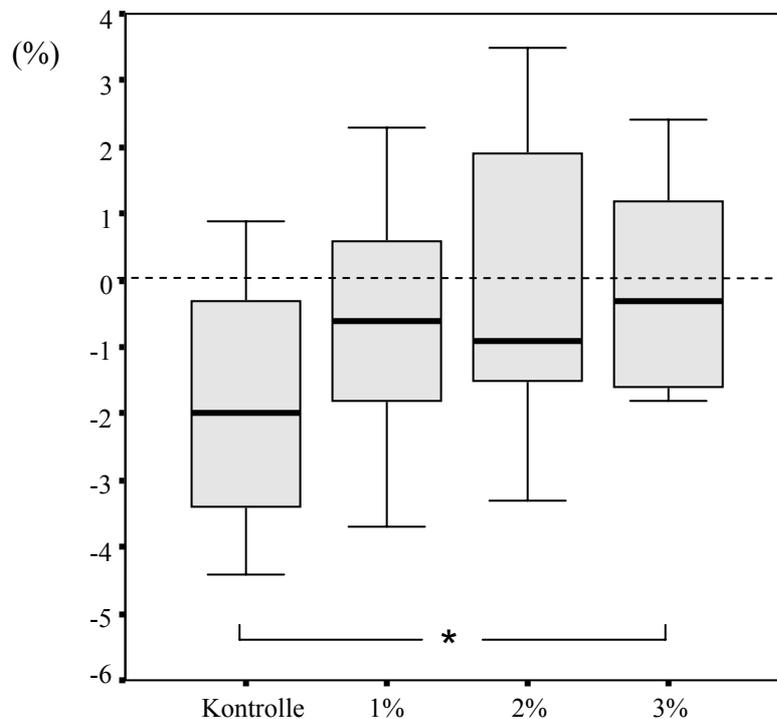


Abbildung 6. Prozentuale Gewichtsveränderung im Therapiezeitraum bei intravenöser Applikation von Taurolidin über eine Woche (\* $p = 0.03$  Kontrolle versus 3%, NPAR Test Mann-Whitney, n je Gruppe = 10).

Überraschenderweise war die Gewichtsveränderung in der Kontrollgruppe am auffälligsten. Im Vergleich zu dieser (Median -2.0%, 90% Konfidenzintervall -2.8 bis -0.7%) war die prozentuale Gewichtsveränderung, die sich in einer Wachstumsretardierung bemerkbar macht, bei den anderen Therapiegruppen geringer ausgeprägt. Auch wenn die Obergrenze des 90% Konfidenzintervalls bei den anderen Gruppen im positiven Bereich (entspricht einer Gewichtszunahme im beobachteten Zeitraum) liegt, zeigt sich eine Änderung im Vergleich zu der Taurolidin 3%-Gruppe (Median -0.3%, 90% Konfidenzintervall -1.0 – 1.0%,  $p = 0.03$ ). Die Werte für die Taurolidin 1%-Gruppe (Median -0.6%, 90% Konfidenzintervall -1.8 – 0.5%,  $p = 0.2$ ) beziehungsweise für die Taurolidin 2%-Gruppe (Median - 0.9%, 90% Konfidenzintervall -3.1 – 1.3,  $p = 0.2$ ) unterschieden sich im Vergleich zur Kontrolle nicht.

#### 4.1.6 Die Gewichtsveränderung im Anschluss an den Therapiezeitraum

Um die Wachstumsretardierung im Therapiezeitraum bewerten zu können, wurde die prozentuale Gewichtsentwicklung im Anschluss an das Therapieintervall (Portexplantation) bis zur Obduktion beobachtet. Fehler durch initiale, absolute Gewichtsunterschiede wurden hierdurch minimiert (siehe Abbildung 7):

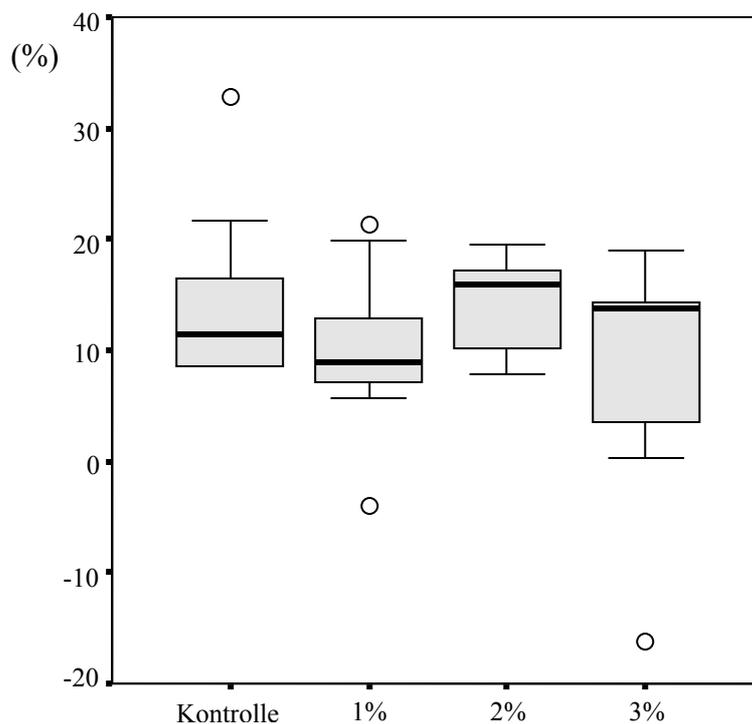


Abbildung 7. Die prozentuale Gewichtsveränderung vom Therapieende bis zur Obduktion in den einzelnen intravenösen Therapiegruppen ( $p = ns$ , NPAR Test Mann-Whitney,  $n$  je Gruppe = 10. Ausreißer sind als Kreise dargestellt).

Alle Tiere nahmen im Beobachtungszeitraum (Ende des Therapiezeitraums, Portexplantation, bis zur Obduktion) an Gewicht zu, wobei sich die prozentualen Gewichtszunahmen nicht voneinander unterschieden. Im Vergleich zur Kontrollgruppe (Median 11.5%, 90% Konfidenzintervall -2 - 19%) ergaben sich sowohl für die Taurolidin 1%-Gruppe (Median 9%, 90% Konfidenzintervall 6 - 14%,  $p = 0.5$ ), als auch für die Taurolidin 2%-Gruppe (Median 16%, 90% Konfidenzintervall 11 - 17%,  $p = 0.6$ ) und die Taurolidin 3%-Gruppe (Median 14%, 90%

Konfidenzintervall 1 - 15%,  $p = 0.3$ ) keine Differenzen. In der Kontrollgruppe wurde eine Gewichtszunahme von 33%, in der Taurolidin 1%-Gruppe eine Gewichtszunahme von 22% sowie eine Gewichtsreduzierung von 4% und in der 3%-Taurolidingruppe eine deutliche Gewichtsabnahme im Anschluss an den Therapiezeitraum von 17% festgestellt. Insgesamt wurde bei der Untersuchung der weiteren Gewichtsentwicklung eine vollständige Rehabilitation bis zum Zeitpunkt der Obduktion beobachtet.

#### 4.1.7 Die perioperativen Granulozyten bei intravenöser Taurolidinapplikation

Die Anzahl der Granulozyten im peripheren Differentialblutbild unterschied sich zwischen den Therapiegruppen zu keinem Untersuchungszeitpunkt ( $p = ns$ ) unter Verwendung des Kruskal-Wallis-Test zur Prüfung der Signifikanz mehrerer unabhängiger Stichproben hinsichtlich ihrer Tendenz. Zwei Tage postoperativ konnte ein Anstieg der Granulozytenzahl verzeichnet werden (Median Kontrolle prä-OP = 1240 Zellen/ $\mu$ l, 90% Konfidenzintervall 798-1612 Zellen/ $\mu$ l, Median 2d post-PI = 2242 Zellen/ $\mu$ l 90% Konfidenzintervall 1858-2346 Zellen/ $\mu$ l,  $p^* = 0,02$ ). Gleichartige Veränderungen traten auch in allen anderen Therapiegruppen auf, allerdings nicht in signifikantem Ausmaß. Der Anstieg der Granulozyten unterschied sich zwischen den Gruppen nicht ( $p=ns$ ). Im direkten Vergleich der relativen Änderung der Granulozytenzahlen der einzelnen Gruppen bezogen auf die Kontrolle, ergab sich eine gleichartige Reaktion aller Gruppen auf die Interventionen und den Therapiezeitraum.

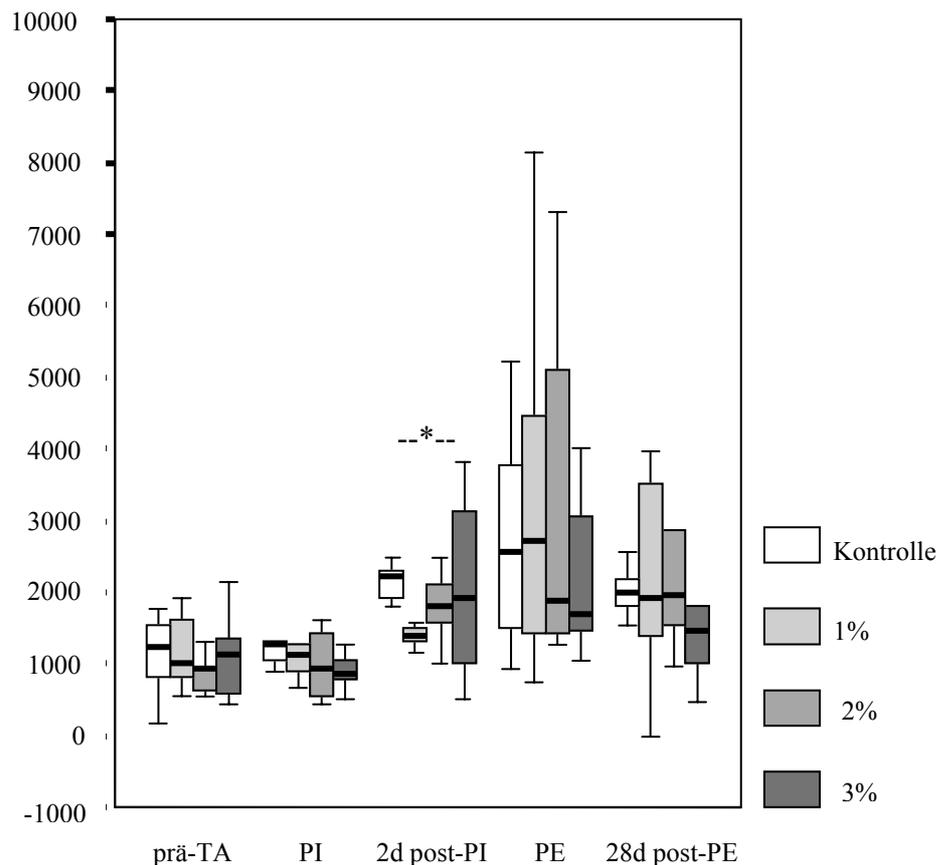


Abbildung 8. Granulozyten im peripheren Blutbild (Zellen pro Mikroliter) bei intravenöser Taurolidinapplikation eine Woche vor Tumorzellapplikation (prä-TA), zum Zeitpunkt der Portimplantation (PI), zwei Tage nach PI (2d post-PI), zum Zeitpunkt der Portexplantation (PE) und vier Wochen nach PE (28d post-PE, \*p = 0.02 Kontrolle prä-TA vs. Kontrolle 2d post-PI, Kruskal-Wallis-Test).

#### 4.1.8 Das perioperative Differentialblutbild bei intravenöser Taurolidinthherapie

Bei der Untersuchung des perioperativen Differentialblutbildes unter Berücksichtigung von Lymphozyten, Granulozyten, Monozyten und Erythroblasten fanden sich keine Unterschiede im Vergleich der Kontrollgruppe zur 3% Taurolidiningruppe. Die gefundenen Daten wiesen zu jedem Abnahmezeitpunkt - unmittelbar vor Tumorzellapplikation (prä-TA), vor der Portimplantation (PI), 2 Tage nach Portimplantation (2 d post-PI), vor der Portexplantation (PE) und vor der Obduktion (28 d post-PE) - vergleichbare Werte im direkten Vergleich auf (siehe Abbildung 9).

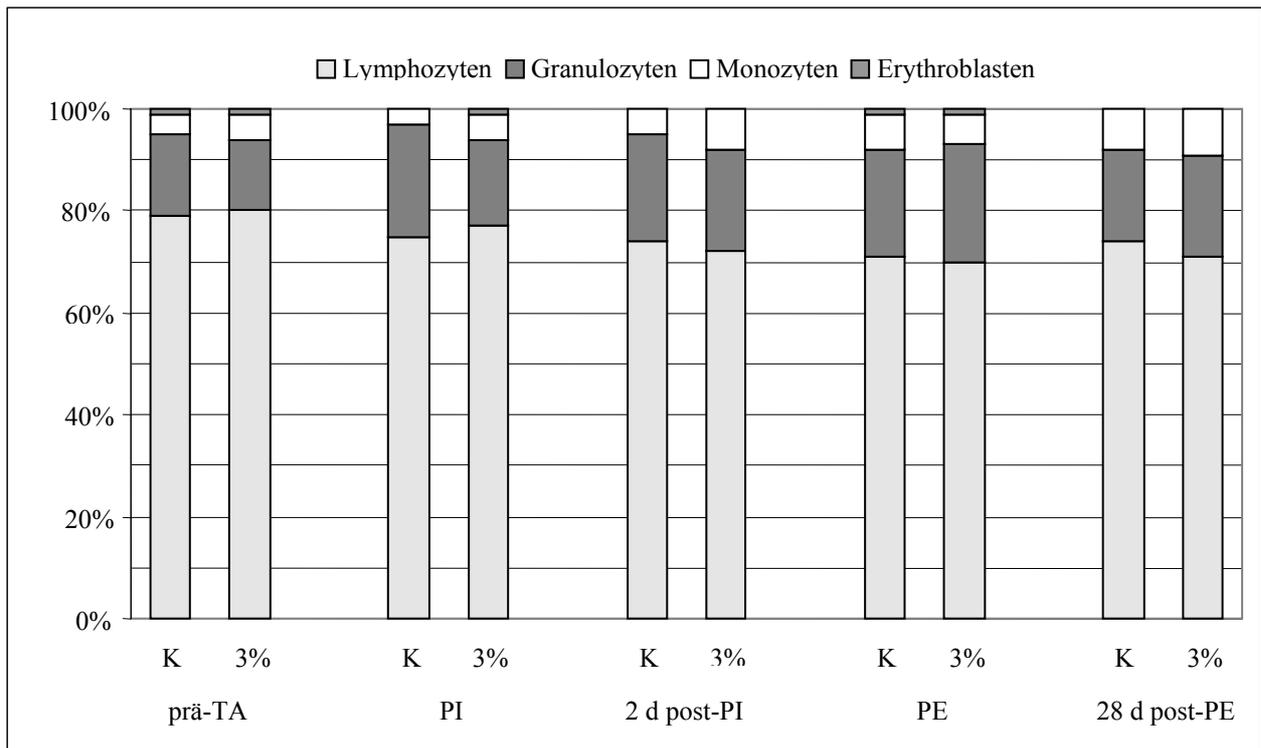


Abbildung 9. Perioperatives Differentialblutbild bei intravenöser Langzeitbehandlung im Vergleich Kontrolle (K) zu 3% Taurolidin i.v. (3%). Jeweilige Angaben in Prozent pro 100 Zellen.

#### 4.1.9 Nebenwirkungen bei intravenöser Taurolidinapplikation

In der Kontrollgruppe wurden zwei Infektionen der Porttasche im Therapiezeitraum beobachtet (2/10). Die Therapie konnte fortgesetzt werden.

Bei einigen Tieren fiel nach intravenöser Taurolidin-Injektion eine temporäre Abnahme der Atemfrequenz und Atemtiefe im Rahmen einer vagotonen Reaktion auf. Kein Tier verstarb.

## 4.2 Intraperitoneale Applikation von Taurolidin bei fortgeschrittenen Tumoren in der konventionellen Chirurgie

### 4.2.1 Das intraperitoneale Tumorgewicht

Die lokale, intraperitoneale Therapie mit Taurolidin (unterschiedliche Konzentrationen, dreimal täglich über den Therapiezeitraum von einer Woche) zeigte im Vergleich zwischen der 2% Taurolidiningruppe (Median 592 mg, 90% Konfidenzintervall 311 - 1244 mg) und der Kontrollgruppe (Median 2280, 90% Konfidenzintervall 1332 - 2886 mg) einen hemmenden Einfluss auf das intraperitoneale Tumorgewicht ( $p^* = 0.05$ , Abbildung 10).

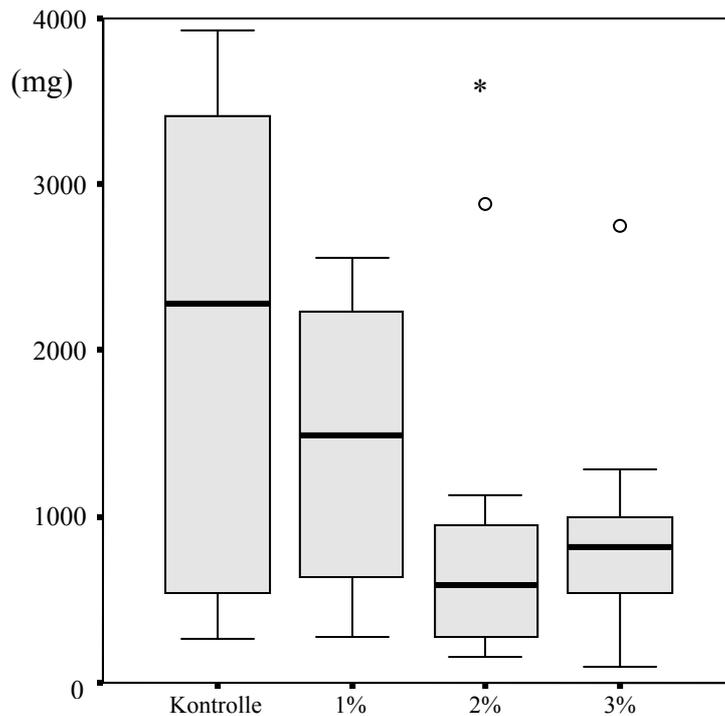


Abbildung 10. Intraperitoneales Tumorgewicht (mg) nach einwöchiger lokaler, intraperitonealer Taurolidintherapie im Vergleich zur Kontrollgruppe ( $*p = 0.05$ , 2% Taurolidin i.v. vs. Kontrollgruppe, n je Gruppe = 10. Kreise entsprechen Ausreißern).

Beim Vergleich der 1% Taurolidin-Gruppe (Median 1493 mg, 90% Konfidenzintervall 941 - 1926 mg, [p = 0.23]) als auch der 3%-Therapiegruppe (Median 821 mg, 90% Konfidenzintervall 533 - 1355 mg, [p = 0.12]) zur Kontrollgruppe zeigten sich keine Unterschiede bezüglich des intraperitonealen Tumorgewichtes. Die Streubreite der Werte war, wie in der Abbildung dargestellt, in der 2%-Taurolidingruppe deutlich geringer als in den Vergleichsgruppen. Die Extremwerte betragen 2883 mg in der 2%-Gruppe und 2746 mg in der 3%-Therapiegruppe.

#### 4.2.2 Die Anzahl intraperitonealer Tumorknoten

Im Vergleich zur Kontrollgruppe (Median 5 Tumorknoten, 90% Konfidenzintervall 2 – 30) zeigte sich sowohl zu der 1%-Therapiegruppe (Median 7 Knoten, 90% Konfidenzintervall -10 – 74, p = 0.45), der Taurolidin 2%-Gruppe (Median 3 Tumorknoten, 90% Konfidenzintervall -16 – 74, p = 0.57) als auch der 3%-Gruppe (Median: 24 Knoten, 90% Konfidenzintervall 18 – 148, p = 0.07) kein Unterschied. Es fiel besonders die hohe Streubreite der Tumorknotenanzahl in der Taurolidin 3%-Gruppe auf, die im Vergleich zur 2%-Gruppe einen Unterschied aufwies und verglichen mit der Kontrollgruppe einen deutlichen Trend aufzeigte (Abbildung 11). Bei einem Ausreißer in der Kontroll-Gruppe wurden 40 intraperitoneale Tumorknoten gezählt.

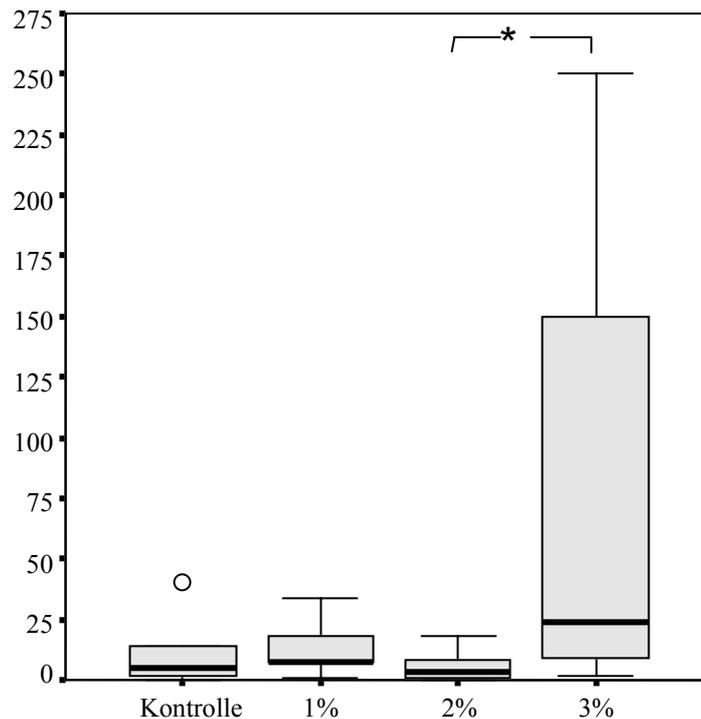


Abbildung 11. Die intraperitoneale Tumorknotenanzahl nach einwöchiger lokaler, intraperitonealer Therapie mit Taurolidin (\* $p = 0.028$  2% versus 3%, NPAR Test Mann-Whitney, n je Gruppe = 10).

Beim Vergleich der Therapiegruppen untereinander zeigte sich, dass die intraperitoneale Tumoranahl bei lokaler Applikation von 3% Taurolidin die intraperitoneale Tumoranahl gegenüber der 2%-Gruppe (respektive Kontrollgruppe und 1% Taurolidingruppe) deutlich erhöht wurde ( $p = 0.028$ ).

#### 4.2.3 Das subkutane Tumorgewicht

Das subkutane Tumorgewicht unterschied sich in den jeweiligen Gruppen nicht ( $p = ns$ , Abbildung 12).

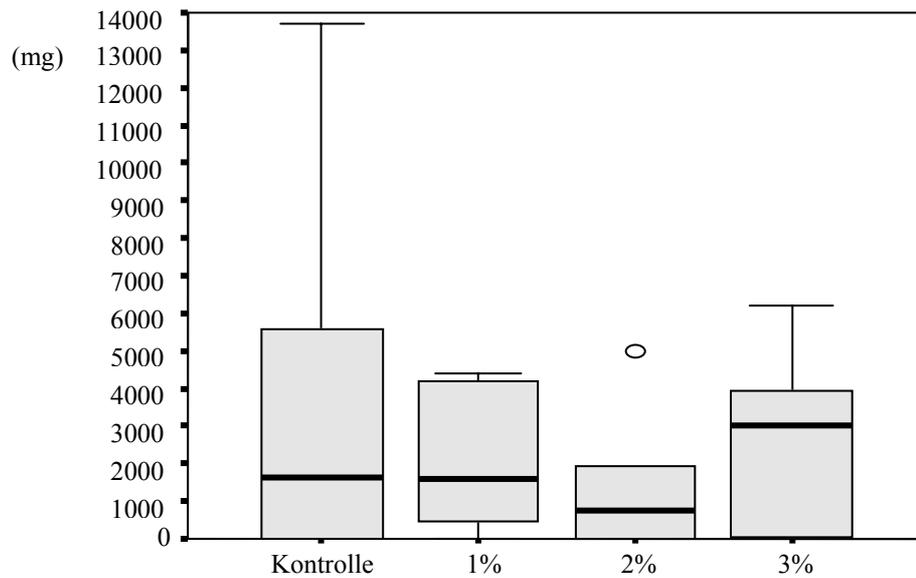


Abbildung 12. Das subkutane Tumorgewicht in mg bei dreimal täglicher intraperitonealer Taurolidinapplikation über den Zeitraum von einer Woche ( $p = ns$ , NPAR Test Mann-Whitney,  $n$  je Gruppe = 10).

Das höchste subkutane Tumorgewicht wurde bei der 3% Taurolidingruppe beobachtet (Median 3001 mg, 90% Konfidenzintervall 1201 – 4039 mg). Es bestand kein Unterschied im Vergleich zur Kontrollgruppe (Median 1627 mg, 90% Konfidenzintervall 899 – 6452 mg,  $p = 1.0$ ), zur Taurolidin 1%-Gruppe (Median 1582, 90% Konfidenzintervall 978 – 3334 mg,  $p = 0.8$ ) und zur intraperitonealen Taurolidin 2%-Applikationsgruppe (Median 762 mg, 90% Konfidenzintervall 130 – 4075 mg,  $p = 0.3$ ). Bei einem Tier in dieser Gruppe betrug das subkutane Tumorgewicht 4990 mg. Die größte Streubreite wurde bei der 1%-Taurolidintherapie beobachtet.

#### 4.2.4 Die Anzahl subkutaner Tumorknoten

Ebenso wie bei den intravenösen Therapiegruppen fand sich bei den intraperitoneal therapierten Tieren jeweils ein einzelner abgrenzbarer subkutaner Tumor ( $p = ns$ , keine Abbildung).

#### 4.2.5 Die Gewichtsveränderung im Therapiezeitraum

Die relativen Gewichtsveränderungen wurden in Prozent (%) bestimmt, um Fehler durch unterschiedliche Initialgewichte der Tiere zu minimieren. Auch die intraperitoneal durchgeführte Therapie verursachte im Therapiezeitraum von einer Woche bei dreimal täglicher Taurolidinapplikation einen prozentualen Gewichtsverlust in allen Gruppen (Abbildung 13). Im Vergleich zu den intravenös therapierten Gruppen zeigten sich ähnliche Ergebnisse (siehe 4.1.5). Ausnahme hierbei ist die 3%-Gruppe, die einen signifikant größeren Gewichtsverlust aufwies ( $p = 0.04$ , 3% intraperitoneal versus 3% intravenös).

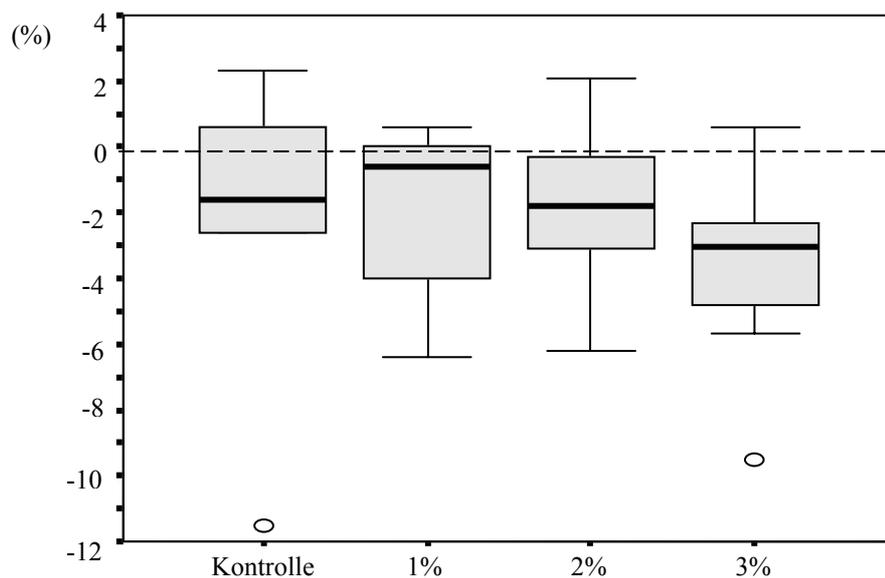


Abbildung 13. Prozentuale Gewichtsveränderung im Therapiezeitraum bei dreimal täglicher, intraperitonealer Taurolidinapplikation ( $p = ns$ , NPAR Test Mann-Whitney,  $n$  je Gruppe = 10)

Im Vergleich zur Kontrollgruppe (Median -1.6%, 90% Konfidenzintervall -4 – 0.3%) zeigten sich keine statistischen Unterschiede in der prozentualen Gewichtsentwicklung im untersuchten Therapiezeitraum. In allen Gruppen mit unterschiedlicher Taurolidinkonzentration ließ sich ein geringer Gewichtsverlust beobachten, der unabhängig von der applizierten Dosis war. Der größte Unterschied wurde im Vergleich von der Kontrollgruppe zur 3%-Taurolidingruppe

(Median -3.1%, 90% Konfidenzintervall -5 bis -2%,  $p = 0.06$ ) beobachtet. Sowohl die Taurolidin 1%-Gruppe (Median -0.6%, 90% Konfidenzintervall -3.5 bis -0.25%,  $p = 0.9$ ) als auch die Taurolidin 2%-Gruppe (Median -1.8%, 90% Konfidenzintervall -3.2 bis -0.4%,  $p = 0.5$ ) zeigten keinen Unterschied im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die Gewichtsveränderung der Ausreißer im beobachteten Zeitraum betrug in der Taurolidin 1%-Gruppe -11.5%, in der 3%-Gruppe -9.5%.

#### 4.2.6 Die Gewichtsveränderung im Anschluss an den Therapiezeitraum

Zur Beurteilung der beobachteten relativen Wachstumsretardierung im Therapiezeitraum wurde die prozentuale Gewichtsentwicklung in den nachfolgenden vier Wochen bis zur Obduktion gemessen. Bei allen Tieren setzte ein vermehrtes Wachstum ein, was in der klaren prozentualen Gewichtszunahme in allen Therapiegruppen deutlich wurde (Abbildung 14).

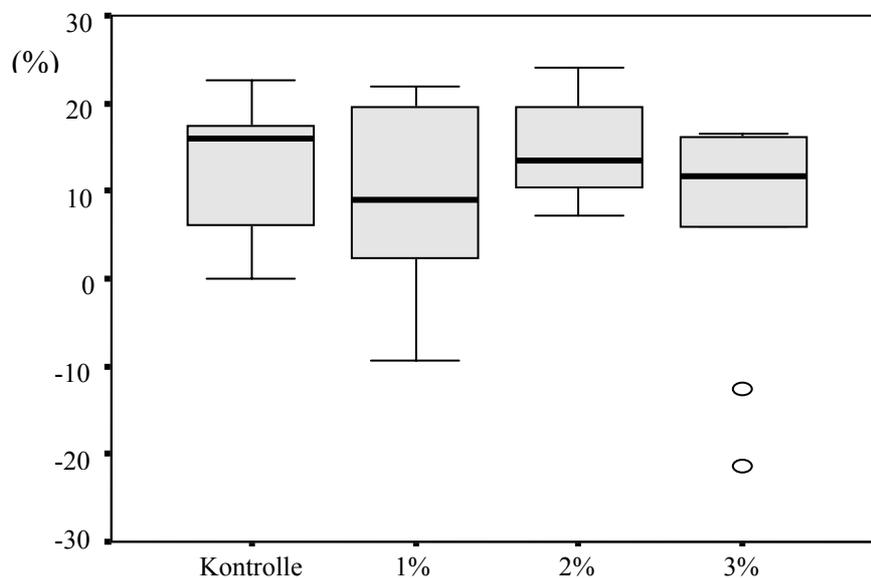


Abbildung 14. Die prozentuale Gewichtsveränderung im Anschluss an die Therapie bis zur Obduktion bei den einzelnen intraperitoneal therapierten Gruppen ( $p = ns$ , NPAR Test Mann-Whitney,  $n$  je Gruppe = 10).

Insgesamt nahmen die Tiere im untersuchten Zeitraum an Gewicht zu und unterschieden sich hierbei nicht ( $p = ns$ ). Im Vergleich zur Kontrollgruppe (Median 16%, 90% Konfidenzintervall 9 – 17%) fand sich für die Taurolidin 1%-Gruppe (Median 9%, 90% Konfidenzintervall 3 – 16%) ein p-Wert von 0.6, für die 2%-Gruppe (Median 13%, 90% Konfidenzintervall 11 – 18%) ein p-Wert von 0.9 und für die Taurolidin 3%-Gruppe (Median 8%, 90% Konfidenzintervall -2 – 15%) ein p-Wert von 0.2. In dieser Therapiegruppe zeigten zwei Tiere einen Gewichtsverlust von 13 bzw. 21 Prozent. Des Weiteren zeigte zudem der Vergleich der Gewichtsentwicklung vom Ende der Therapie bis zur Obduktion zwischen intravenöser versus intraperitonealer Taurolidinapplikation vergleichbare Werte (siehe 4.1.6).

#### 4.2.7 Die perioperativen Granulozyten bei intraperitonealer Taurolidinapplikation

Vergleichbar mit den intravenösen Therapiegruppen zeigte sich auch bei intraperitonealer Taurolidinapplikation in allen Gruppen ein milder Anstieg der Granulozytenzahlen im peripheren Blutbild zwei Tage nach Portimplantation. Die Anzahl der Granulozyten unterschied sich jedoch ebenso wenig wie das Ausmaß der quantitativen Veränderungen zwischen den einzelnen Gruppen zu keinem Zeitpunkt voneinander ( $p = ns$ , siehe Abbildung 15).

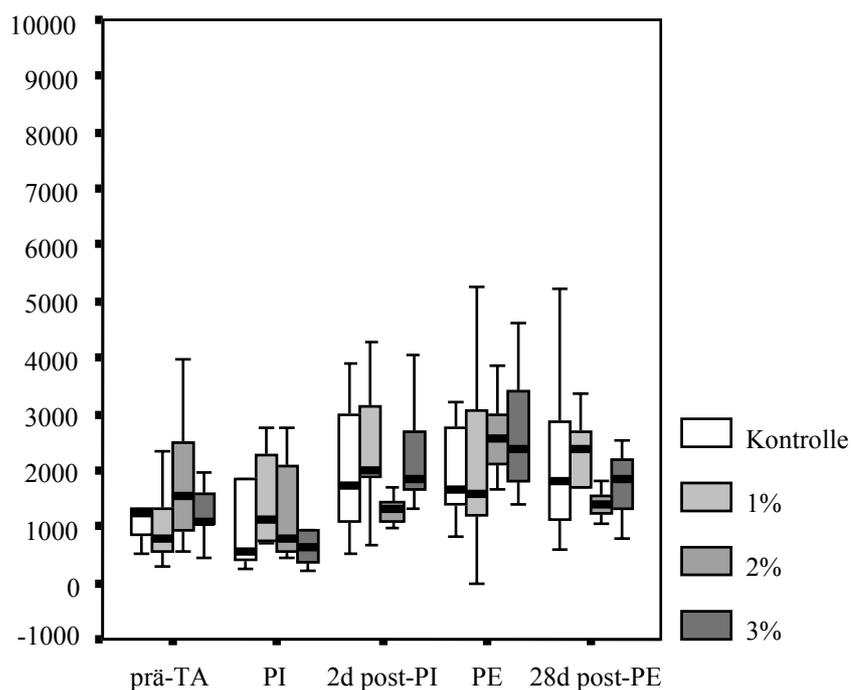


Abbildung 15. Granulozyten im peripheren Blutbild (Zellen pro Mikroliter) bei lokaler intraperitonealer Taurolidinapplikation eine Woche vor Tumorzellapplikation (prä-TA), zum Zeitpunkt der Portimplantation (PI), zwei Tage nach Portimplantation (2d post-PI), zum Zeitpunkt der Portexplantation (PE) und vier Wochen nach Portexplantation (28d post-PE).

#### 4.2.8 Nebenwirkungen bei intraperitonealer Taurolidinapplikation

In der TRD 1%-Therapiegruppe wurde bei einem Tier ein lokaler Portkatheter-assoziiertes Abszess (1/10) in Anschluss an den Therapiezeitraum behandelt.

Im Gegensatz zu den intravenös therapierten Tieren wurden keine Veränderungen bezüglich der Atmung während der Injektionen beobachtet. Kein Tier verstarb.