

5. Diskussion

Bösartige Tumoren führen aufgrund ihres Wachstumsverhaltens sowie der Metastasierung in andere Organe oft zu erheblichen Lebensqualitätseinschränkungen und zur Verkürzung der Lebenserwartung. Die Therapieoptionen derartiger Erkrankungen sind entsprechend der Organlokalisierung und des Tumorstadiums unterschiedlich. Zumeist wird das befallene Organ chirurgisch reseziert und damit der Primärtumor entfernt. Im Verlauf der Erkrankung ist es jedoch auch möglich, dass eine peritoneale Aussaat von vitalen Tumorzellen oder eine hämatogene Metastasierung zu einem fortgeschrittenen, intraperitonealen Tumorleiden mit Fernmetastasen führt. In dem Tiermodell dieser Arbeit sollte deshalb der Einfluss einer palliativen intraperitonealen sowie intravenösen Therapie mit Taurolidin, einem Antiseptikum mit antineoplastischer Wirksamkeit, auf das intra- und extraperitoneale Tumorwachstum bei fortgeschrittenen Tumoren analysiert werden.

Zahlreiche tierexperimentelle Studien haben verschiedenste zytotoxische Substanzen und Chemotherapeutika auf die Wirksamkeit zur Verhinderung von Tumorwachstum bzw. die Entstehung von Tumoren untersucht [1,10,16,35,39,48,52,55,75,82,87]. Iwanaka et al. untersuchten in einem laparoskopischen Experiment die lokale intraperitoneale und systemische Wirkung von Cyclophosphamid nach der Implantation von TBJ-Neuroblastomzellen in die Flanken bei A/J Mäusen [29]. Unter Verwendung zweier unterschiedlicher Operationstechniken, Pneumoperitoneum mit Kohlendioxid sowie gasloser Laparoskopie, fanden sich zwei Wochen nach Implantation und Randomisierung weniger Trokarrezidive, wenn eine systemische oder intraperitoneale Injektion von Cyclophosphamid erfolgte. Zwischen den beiden Applikationsformen wurde jedoch kein Unterschied gefunden. Da das Neuroblastom im Gegensatz zu den kolorektalen (Adeno-) Karzinomen ein vergleichsweise seltenes Malignom ist und im allgemeinen die Therapie maligner Tumoren mit Cyclophosphamid aufgrund der beträchtlichen Nebenwirkungen nicht empfohlen werden kann, sind diese Ergebnisse ohne bedeutende klinische Relevanz. In der Weiterentwicklung bekannter Antiseptika zeigte sich, dass bei intraperitonealer und intravenöser Applikation einige zytotoxische und antiadhärente Substanzen eine tumorsupprimierende Wirkung aufweisen [7,11,12,16,32,33,48,52,53,56,70,72,83]. Die meisten tierexperimentellen Daten über die Verhinderung des Tumorwachstums liegen bisher bei der intraperitonealen Anwendung vor. Im Bauchraum werden insbesondere vitale, freie Tumorzellen durch die Substanzen erreicht, wodurch die Ausbildung von lokalen Tumoren bzw. Metastasen reduziert werden könnte. Wu et al. beobachteten nach lokaler Applikation von einprozentigem Silbersulfadiazin ebenfalls eine

Hemmung von Inzisions- und Bauchwandmetastasen [87]. Die Ergebnisse wurden jedoch vielfach diskutiert, da die hohe Tumorzinzidenz in der Therapiegruppe (75%) im Vergleich zur Kontrollgruppe (93%) keinen eigentlichen Therapieerfolg darstellte. Die Arbeitsgruppe um Neuhaus et al. konnte bei Dark Agouti Ratten nach einer laparoskopischen Operation eine signifikante Reduktion des intraperitonealen Tumorwachstums nach intraperitonealer Applikation von PVP-Jod nachweisen [52,53]. Allerdings hatte die lokale Instillation von PVP-Jod neben der tumorsupprimierenden Wirkung beträchtliche Nebenwirkungen. Aufgrund seiner unspezifischen Toxizität durch freiwerdendes Jod werden auch die Peritonealmakrophagen in ihrer Funktion geschädigt, was die lokale intraperitoneale Immunabwehr beeinträchtigen bzw. herabsetzen und zudem das Tumorwachstum durch eine gesteigerte Zytokinfreisetzung aus den zellulären Vesikeln sogar stimulieren kann. PVP-Jod führt zudem auch zu vermehrten Fibrinausschwitzungen auf Leber und Milz führt, was Jacobi et al. in eigenen Versuchen mit dieser Substanz zeigen konnten [33,35]. Ungeklärt ist bislang der Stoffwechsel des PVP, welches Monate im Körper kumulieren kann. Fibrinauflagerungen könnten vermehrte Adhäsionen im Oberbauch induzieren und somit eine Voraussetzung zur Metastasierung bilden und spätere chirurgische Eingriffe erschweren. Als zentrales Problem sind im späteren Krankheitsverlauf Komplikationen im Sinne eines Subileus, mechanischen Ileus oder rezidivierender, unspezifischer Abdominalbeschwerden denkbar [77]. Die genannten zytotoxischen Therapieansätze scheinen aufgrund ihrer erheblichen Nebenwirkungen und der zum Teil fraglichen antineoplastischen Wirksamkeit auf das Tumorwachstum in der Einsatzmöglichkeit bei elektiven Operationen maligner abdominaler Tumoren sehr begrenzt.

Zur Verhinderung des Tumorwachstums und der Entwicklung von Metastasen geriet in den vergangenen Jahren das 1970 von Geistlich-Pharma entwickelte Taurolidin in den Blickpunkt der Forschung. Zunächst als adjuvantes Therapeutikum erfolgreich zur Behandlung der diffusen Peritonitis und anderer verschiedener Infektionen verwendet [40,71], konnte in nachfolgenden Studien gezeigt werden, dass Taurolidin als Breitbandantibiotikum direkt bakterizid und anti-endotoxisch auf eine Vielzahl von aeroben und anaeroben, grampositiven und gramnegativen Bakterien wirkt, darunter auch klinisch relevante multi-antibiotika-resistente Erreger wie MRSA, VISA oder VRE [58,59,62,65]. Der hohe Wirkeffekt erklärt sich durch den zugrunde liegenden Wirkmechanismus: das Agens Taurolidin (Bis- [1,1-Dioxiperhydro-1, 2, 4-Thiadiazinyl-4]-Methan) entsteht durch Kondensation zweier Moleküle Taurin mit drei Molekülen Formaldehyd.

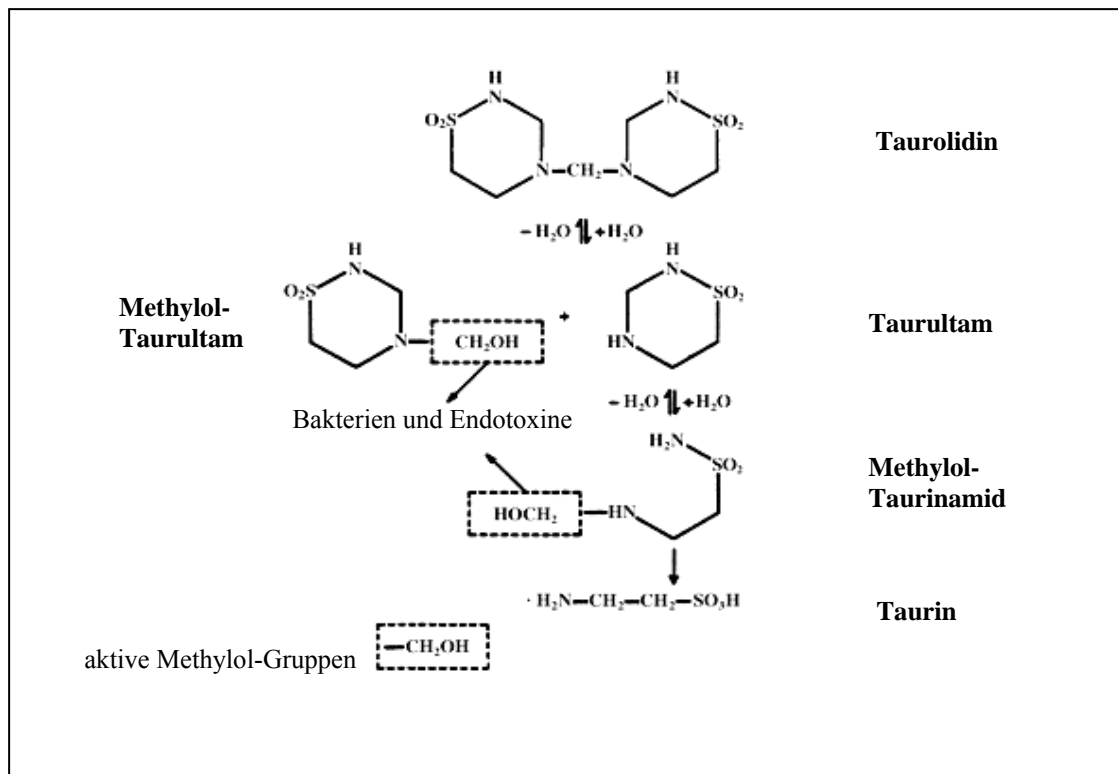


Abb. 16. Die Taurolidin-Struktur und seine Stoffwechselprodukte. Geändert und übernommen aus [12].

In wässriger Lösung unterliegt Taurolidin der Hydrolyse und befindet sich im Gleichgewicht mit Taurultam und Methylol-Taurultam. Pro Molekül Taurolidin entstehen hierbei drei Methylolenthaltende Fragmente (Abb. 16). Nach Zerstörung der aus Lipopolysacchariden (LPS) bestehenden Bakterienzellwand kommt es durch die Interaktion der Methylolgruppen mit den Zellwandbestandteilen, wie Lipid A als toxischer Komponente, zu einer chemisch irreversiblen Vernetzung der Zellwandbestandteile. Hierdurch wird das nachfolgende Freiwerden von Endotoxinen und somit auch der konsekutive Pathomechanismus der abdominalen Entzündungsreaktion verhindert. Ebenso kommt es durch die Zerstörung der Faserstrukturen der Bakterienzellwand wie Fimbrien und Flagellen zur Unterbrechung der Infektion, da die Adhärenzmöglichkeit der Bakterien zur Wirtszelle aufgehoben wird. Hierdurch verlieren die Bakterien ihre Nahrungsquelle und werden apathogen [4,21,59]. Bei der Anwendung von Taurolidin zur Behandlung von bakteriellen Infektionen wird in der Literatur auf den Zeitpunkt der Applikation hingewiesen. Demnach steht vor allem der protektive und prophylaktische Aspekt der Substanz im Vordergrund [50,81]. Mittels in-vivo-Experimenten konnte nach Taurolidin(vor)behandlung per Peritoneallavage eine markante Reduktion des

Bakterienwachstums und eine signifikant niedrigere Serum-Endotoxinkonzentration nachgewiesen werden [4]. Ebenso konnte in neueren Studien ein prophylaktischer Effekt von Taurolidin bei der Entstehung von katheterassoziierten Infektionen gezeigt werden [36,42]. Einen weiteren entscheidenden Vorteil bietet Taurolidin dadurch, dass es seine antiseptischen Effekte ohne Beeinträchtigung des physiologischen lokalen zellulären Immunabwehrsystems erzielt. So bleibt zum Beispiel die Leukozyten-Immigration nach lokaler intraabdominaler Applikation ebenso wie die Phagozytoseaktivität von Makrophagen unbeeinflusst [6,7,12,33]. Eine weitere klinisch relevante Eigenschaft ist, dass die Taurolidinabsorption über das Peritoneum unter entzündlichen Bedingungen unverändert bleibt [40]. Bislang sind keine Resistenzen von Erregern gegen Taurolidin bekannt und sind aufgrund des Wirkmechanismus auch in Zukunft nicht zu erwarten [58], was die potente Rolle dieser Substanz in der antimikrobiellen Behandlung weiter hervorhebt. Trotz der beeindruckenden antimikrobiellen und antiadhärenten Eigenschaften von Taurolidin in oben beschriebenen Studien, weisen einige Autoren darauf hin, dass eine Behandlung mit Taurolidin als Spüllösung zwar eine messbare Abnahme der Anzahl von Mikroorganismen und der Endotoxin-Konzentrationen im Plasma bewirkt, die klinische Anwendung aber nicht empfohlen werden kann, da es im induzierten Peritonitismodell keine positiven Auswirkungen auf die Mortalitätsrate beziehungsweise auf das Entstehen von toxischen Lungenödemen und somit dem klinischen Outcome hat [27,65]. Bei der Bewertung dieser Aussagen stellt sich allerdings die Frage nach einem sinnvollen Studienansatz bzw. angemessenen Bewertungskriterien in den genannten Studien, da vor der Taurolidin-Applikation jeweils eine fulminante Peritonitis induziert wurde und daher bereits eine ausgeprägte Bakteriämie und vor allem Endotoxinämie denkbar ist. Mortalität und die Entwicklung eines toxischen Lungenödems stünden somit im Zusammenhang einer zu diesem Zeitpunkt durch Taurolidin nicht mehr aufzuhaltenden Entzündungsreaktion im Sinne eines SIRS (systemic inflammatory response syndrome). Von Rosman et al. wird zudem von einer einmaligen und alleinigen Taurolidin-Applikation eher abgeraten und eine Kombination mit einem potenten Antibiotikum empfohlen, um die antimikrobiellen Effekte zu kumulieren [66].

Im Jahre 1990 formulierte die Arbeitsgruppe um Monson zum ersten Mal einen Hinweis auf einen antineoplastischen Effekt von Taurolidin. Die subkutane Applikation von 20 mg Taurolidin (3 Tages-Therapie) führte bei Mäusen zu einer Hemmung der Melanombildung und von Lungenmetastasen [49]. In Analogie zum bakteriziden Wirkmechanismus sollte hierfür eine denkbare Beeinflussung der proliferativen Eigenschaften der Tumorzellen sein. Anschließend in-vitro Versuche zeigten überraschenderweise eine direkte, zytotoxische und somit

antineoplastische Wirkung auf unterschiedliche Tumorzelllinien. McCourt et al. inkubierten in einem in-vitro-Experiment die kolorektale Tumorzelllinie DHD/K12/TRb der Ratte, die auch in unserer Studie Verwendung fand, mit unterschiedlichen Konzentrationen von Taurolidin [48]. Unter Anwendung durchfluss-zytometrischer Messungen von Annexin V-FITC -Bindungen unter Propidiumiodidfärbung (PI) konnten bei Konzentrationen von 5 bis 10 µg/ml Taurolidin Apoptosen (Annexin V-positiv, PI-negativ) nachgewiesen werden. Dabei zeigten die Zellen eine vierfach höhere Apoptoserate und eine vierfach niedrigere Proliferationsrate als die Zellen der Kontrollgruppe, welche nur mit Kulturmedium inkubiert wurden. Bei höheren Konzentrationen von 15 bis 25 µg/ml wurden die Zellen nekrotisch (Annexin V-positiv, PI-positiv). Parallel zu dem in-vitro Experiment wurde ein tierexperimenteller Versuch durchgeführt. Allen Tieren (n = 10, BD IX Ratten) wurde nach medianer Laparotomie, intraperitonealer Tumorzellapplikation und Randomisierung in der Kontrollgruppe Taurolidin und PBS (phosphatgepufferte Salinelösung) bzw. in der Therapiegruppe nur Taurolidin intraperitoneal instilliert. Ohne PBS wurde das lokale Tumorstadium hochsignifikant reduziert. Hierbei scheint der verdünnende und puffernde Effekt von PBS die Wirksamkeit von Taurolidin in erheblichem Maße zu begrenzen. Die in-vitro und in-vivo Ergebnisse von McCourt et al. zeigen eine konzentrations-beziehungsweise dosisabhängige Wirksamkeit von Taurolidin auf Tumorzellen sowie möglicherweise die Notwendigkeit eines direkten Kontaktes zu Tumorzellen. Mehrere Studien konnten diese Ergebnisse bestätigen [6,20,56]. Zur Sicherung der in-vitro gewonnenen Ergebnisse auf das Tumorstadium wurden mehrere experimentelle Arbeiten an Tiermodellen mit den inzwischen für Kolonkarzinom-Modellen validierten syngenetischen DHD/K12/TRb-Tumorzellen durchgeführt [5].

So konnten Jacobi et al. in mehreren Studien zeigen, dass bereits geringe Konzentrationen von Taurolidin unter laparoskopischen Bedingungen mit Etablierung eines Pneumoperitoneums zu einer Tumorsuppression führen [5,32-35]. In einem in-vitro Versuch wurden zunächst die Kolonkarzinomzellen (DHD/K12/TRb) mit Taurolidin, Heparin oder beiden Substanzen inkubiert und die Wachstumskinetik der Zellen bestimmt. Während die Inkubation mit Heparin keine Beeinflussung des Tumorstadiums zeigte, konnte durch Taurolidin und Taurolidin/Heparin eine deutliche Reduzierung des Tumorstadiums erreicht werden. In einem sich anschließenden in-vivo Versuch erfolgte bei allen Tieren (BD IX Ratten, n = 60) die intraperitoneale Applikation von 10^4 Tumorzellen und der Aufbau eines Pneumoperitoneums für 30 Minuten. Die Ratten wurden in vier Gruppen randomisiert und erhielten entweder keine Therapie, Taurolidin (0.5%), Heparin (20 I.E.) oder die Kombination Taurolidin/Heparin jeweils

intraperitoneal appliziert. Hier war sowohl bei alleiniger Applikation von Heparin als auch Taurolidin das intraperitoneale Tumorgewicht gegenüber der Kontrollgruppe vermindert. Die Wirksamkeit der alleinigen Heparin-Applikation wurde durch die anti-adhärenenten Fähigkeiten der Substanz erklärt [8,20,32,34,55,69]. Heparin bindet dabei unter anderem extrazelluläre Matrixproteine wie Fibronectin, das für den Adhäsionsprozess von wichtiger Bedeutung ist [32]. Die Kombination beider Substanzen zeigte einen synergistischen Effekt und verursachte eine fast vollständige Verhinderung des Tumorwachstums. In weitergeführten in-vivo Arbeiten mit gleichen Versuchsbedingungen von Braumann et al. [10,11] konnten diese Ergebnisse bestätigt werden. Zusätzlich wurde in diesen Tierversuchen jedoch auch die Auswirkung einer intravenösen Applikation von Taurolidin (0.5%) bzw. die Kombination von Taurolidin und Heparin auf das intraperitoneale Tumorwachstum ausgewertet. Neben der intraperitonealen Tumorzellapplikation wurden den Tieren (n = 105, BD IX Ratten) zur Simulation von Fernmetastasen Tumorzellen subkutan in den Nacken injiziert. Taurolidin und Heparin wurden einmalig intraperitoneal instilliert, um den direkten Einfluss auf das intraperitoneale Wachstum zu untersuchen. Eine intravenöse Injektion sollte systemische Effekte beider Substanzen auf das intraperitoneale und subkutane Tumorwachstum analysieren. Lokale und systemische tumorinhibierende Effekte wurden durch eine simultane intraperitoneale und intravenöse Applikation beider Substanzen untersucht. In allen Therapiegruppen (ip, iv, ipiv) hatten die Substanzen keinen Effekt auf das subkutane Tumorwachstum der Tiere. Ebenso erzielte die alleinige intravenöse Applikation von Taurolidin und Taurolidin/Heparin keinen tumorsupprimierenden Effekt auf intraperitoneale Tumoren. Es wurde diskutiert, ob die gewählte Taurolidin-Konzentration von 0.5% zu gering für eine systemische Wirksamkeit ist. So konnten Weberschock et al. durch eine Dosiserhöhung von Taurolidin eine Änderung der therapeutischen Wirksamkeit beobachten [82]: die einmalige Injektion von 1 ml zweiprozentigem Taurolidin erfolgte in eine periphere Schwanzvene der Tiere (n = 45, Wag/Rij-Ratten) und führte vier Wochen nach Tumorzellapplikation in die Milz zu einer Reduzierung von Lebermetastasen. Eine konzentrationsabhängige Wirkung von Taurolidin auf verschiedene Tumorzelllinien von Kolon-, Pankreas-, Gallenblasenkarzinomen und Neuroblastom- und Glioblastomtumorzellen konnte in weiteren Arbeiten bestätigt werden [16,55,56,64,70,72,83]. Anzumerken ist, dass jeweils nur eine einmalige Applikation der genannten Substanzen erfolgte und die Obduktion der Tiere jeweils nach vier Wochen durchgeführt wurde und somit das induzierte Tumorwachstum in einem frühen Stadium beurteilt wurde.

Des Weiteren wurden bislang bei der intraperitonealen oder intravenösen Anwendung von Taurolidin in niedrigen Konzentrationen keine akuten oder chronischen Nebenwirkungen

beschrieben [7,10,12,74]. Die rasche Hydrolyse und Metabolisierung zu Taurultam, Methyltaurultam, Taurinamid und Kohlendioxid und die damit bei ungestörter Organfunktion über Leber, Niere und Lunge schnelle Eliminierung aus dem Körper dürften hierbei eine Rolle spielen. So beträgt die Halbwertszeit für Taurolidin ca. 2 Stunden, die HWZ für den Metaboliten Taurultam etwa 6,5 Stunden. Bei einer starken Erhöhung der infundierten Menge pro Zeiteinheit wurden hauptsächlich reversible vagotone Nebenwirkungen wie Salivation, Miosis, Lakrimation und Sedation beschrieben [58]. Die Letalitätsdosis (LD_{50}) von Taurolidin ist bei Maus, Ratte und Kaninchen wegen der geringen Löslichkeit im hochprozentigen Bereich und der damit verbundenen Volumenprobleme nicht genau bestimmbar, sie liegt jedoch in einem hohen Dosierungsbereich. Bei intravenöser Applikation liegt die LD_{50} bei den genannten Tieren bei über 2000 mg/kg Körpergewicht (KG). Die chronische intraperitoneale Applikation von zweimal täglich 100 mg/kg KG Taurolidin über den Zeitraum von zehn Tagen wurde in Tierversuchen mit Ratten gut vertragen [58]. Aufgrund der schlechten Löslichkeit Taurolidins ist eine Erhöhung der Injektionskonzentration (bis 3%) nur mit Kollidon (PVP 17, Polyvinylpyrrolidon), einem löslichkeitsfördernden Stabilisator, möglich. Bei 3% ist die Löslichkeitsgrenze erreicht und die Substanz neigt zur Kristallisation. In der Literatur werden zur Behandlung der Peritonitis keine Nebenwirkungen bei bolus- oder intermittierender systemischer Applikation an Ratten bis zu einer Dosierung von 300 mg/kg KG über 24 Stunden beschrieben. Maximale Dosierungen pro Tag, bei denen oben genannte Nebenwirkungen verstärkt aufgetreten sind, werden mit 600 mg/kg Körpergewicht angegeben [48]. Bei unserem Versuch betrug die applizierte Dosierung bei einem Molekulargewicht von Taurolidin von 284 und einer maximal dreiprozentigen Lösung (105 milli Molar, mM) bei einer applizierten Menge von 3 ml/Tag und einem Gewicht von circa 300g pro Ratte maximal 292,5 mg/kg KG. Die applizierte Dosis liegt damit zwar in der Nähe der in der Literatur angegebenen und als nebenwirkungsfrei beschriebenen 300 mg/kg KG, sie beträgt jedoch nur etwa 50% der maximal angegebenen Dosierung von 600 mg/kg KG. Da die antineoplastische Aktivität von Taurolidin bereits festgestellt werden kann, wenn die Konzentration etwa hundert Mal geringer ist als die notwendige antibiotische Konzentration von Taurolidin, sind schwerwiegende Nebenwirkungen nicht wahrscheinlich [12].

Die Therapie bösartiger Tumoren ist entsprechend ihrer Organlokalisation und des jeweiligen Tumorstadiums oft unterschiedlich. Zumeist kann das befallene Organ chirurgisch reseziert und hierdurch der Primärtumor entfernt werden. Im Verlauf einer Tumorerkrankung ist es jedoch auch möglich, dass eine peritoneale Dissemination von Tumorzellen oder eine hämatogene Metastasierung zu einem fortgeschrittenen, intraperitonealen Tumorleiden mit Fernmetastasen

führt und mögliche Therapieansätze in diesem Stadium nach chirurgisch-palliativen Resektionskriterien überdacht werden. In unserem Tiermodell sollte deshalb der Einfluss einer palliativen intravenösen und intraperitonealen Taurolidintherapie mit steigenden Dosierungen auf solide intra- und extraperitoneale Tumoren an der Ratte analysiert werden. Das Wachstum zahlreicher Tumorknoten repräsentierte hierbei das fortgeschrittene Tumorstadium mit disseminierten Metastasen und Infiltration des viszeralen Peritoneums (entspricht dem Stadium T4 gemäß der TNM-Klassifikation von Colonkarzinomen). Bislang ist Taurolidin nur im engen zeitlichen Zusammenhang zur Tumorzellapplikation untersucht worden und somit in einer Phase, in der durch Taurolidin vor allem die Tumorzelladhäsion als entscheidender Pathomechanismus beeinflusst wird. Aufgrund der viel versprechenden in-vitro-Versuche mit den tumorzellsupprimierenden Ergebnissen sollte erforscht werden, ob auch bei fortgeschrittenen, soliden Tumoren eine Hemmung des Tumorwachstums durch intravenöse oder intraperitoneale Applikation von Taurolidin erreicht werden kann.

Das Tumorwachstum und die Entwicklung von Metastasen stellt ein komplexes Geschehen dar, welches durch zahlreiche Faktoren beeinflusst wird. Bei der Frage nach den Mechanismen, durch die Taurolidin seine tumorhemmenden Eigenschaften bewirkt, sind in den letzten Jahren einige Arbeiten zum besseren Verständnis erschienen. Ab einer Tumorknotengröße von 2-3 mm³ kommt der Ausbildung von neuen Gefäßen (Neovaskularisation) zur Versorgung und Ernährung des Tumors eine weitere Bedeutung zu und stellt somit eine wichtige Voraussetzung in Hinblick auf die Gesamtgröße und Ausbreitung des Tumors dar [63]. Hierbei spielt der proangiogene Faktor VEGF, ein selektives Gefäßendothel-Mitogen, eine essentielle Rolle [18,41,54]. VEGF, der weitere relevante Bedeutung bei der Entzündungsreaktion und der Wundheilung besitzt, wird zum Teil durch einen parakrinen Mechanismus von Tumorzellen selbst produziert. Es konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit einem Tumorleiden deutlich erhöhte Plasmaspiegel von VEGF vorliegen [17]. Des Weiteren haben unterschiedliche (proinflammatorische) Zytokine bei der Regulation dieses Faktors einen wichtigen Einfluss. Die von Monozyten und Peritonealmakrophagen produzierten Zytokine wie TNF- α , IL-1 und IL-6 wirken unter anderem als Mediatoren bei der Expression des VEGF-Rezeptors auf Zelloberflächen und sind bei Tumorpatienten ebenfalls in erhöhtem Maße nachweisbar [15,43,76,88]. Eine besondere Rolle kommt hierbei dem Interleukin 1 β (IL-1 β) zu. Es konnte gezeigt werden, dass es Tumorzellen beeinflusst. Neben der Erhöhung der Adhärenzneigung von freien, vitalen (Tumor-) Zellen stellt es auch einen unmittelbaren wachstumsfördernden Stimulus dar [33,37,86]. Im Hinblick auf einen derartigen Pathomechanismus bei der Entstehung von

Tumoren beziehungsweise deren Metastasen stellt sich die Frage nach neuen Therapieansätzen, wie der Supprimierung der Zytokinproduktion oder einer Hemmung der bereits exprimierten Zytokine. Bei Taurolidin konnte in zahlreichen Studien sowohl eine adhäsionshemmende Wirkung als auch ein Effekt durch nahezu vollständige zellassozierte Supprimierung der Zytokinproduktion, vor allem TNF- α und IL-1 β , nachgewiesen werden [6,12,32,86]. Die Übertragung von Methylolgruppen von Taurolidin auf die Aminogruppen der Rezeptoren der zytokin-produzierenden Zellen kann zu deren Funktionsverlust führen. Vor allem IL-1 β nimmt als regulatorisches Molekül bei der Produktion weiterer Zytokine eine Schlüsselrolle ein [43,88]. Dieses scheint von größerer Bedeutung zu sein, da nach chirurgischen Eingriffen, zum Beispiel die Resektion maligner abdominaler Tumoren, oben genannte Zytokine in deutlich erhöhten Plasma- und Peritonealflüssigkeitkonzentrationen messbar sind [2,3]. Eine mögliche Tumorentstehung beziehungsweise die Ausbildung von Metastasen wird zudem durch die postoperativ auftretende, nach etwa einer Woche reversible zelluläre Immunsuppression begünstigt [13,25,45]. Hervorzuheben ist, dass die Modulation der systemischen, zellvermittelten Entzündungsreaktion durch die Therapie mit Taurolidin erfolgt, ohne die physiologische Aktivität (Zellviabilität und -funktionalität) der peritonealen Makrophagen und Monozyten zu beeinträchtigen [6,7,12,33]. In den tierexperimentellen Arbeiten von Braumann et al. trat eine postoperative Leukopenie auf, der eine kompensatorische Leukozytose folgte [10,11]. Da diese Beobachtung jedoch auch in den Kontrollgruppen gemacht wurde, ist dies nicht als Nebeneffekt von Taurolidin zu werten, sondern durch die Interventionen zu begründen [22]. Es wird deutlich, dass neben der mechanisch bedingten Tumorzell dissemination bei chirurgischen Eingriffen [1,16,17,23,29,30,44,47,52,79,87] zahlreiche weitere ineinander greifende Komponenten des Immunsystems eine bedeutende Rolle bei der Entstehung von Tumoren beziehungsweise deren Metastasen besitzen.

Die hemmenden Effekte von Taurolidin auf Zytokine und nachfolgend auf die Expression von VEGF scheinen eher eine untergeordnete Rolle zu spielen. Die nachgewiesene Beeinflussung dieser Pathomechanismen wirkt sich auf die Tumor- und Metastasenbildung aus, hat also ihre vorrangige Bedeutung bei der Entstehung von malignen Tumorknoten beziehungsweise bei Karzinomen im Frühstadium. In unserem Tierexperiment sollte jedoch der Einfluss einer zunehmenden Taurolidindosierung auf das Wachstum fortgeschrittener, solider Tumoren festgestellt werden. Oben genannte Faktoren sind zwar auch in fortgeschrittenen Tumorstadien von Bedeutung, allerdings haben in unserem Modell die primären Schritte der Metastasierung – Adhäsion, Wachstumsstimulation, Neoangiogenese – bereits stattgefunden. In unserem

Experiment wurden andere Mechanismen beobachtet. Bei entzündlichen Prozessen oder Tumorerkrankungen werden inflammations- oder tumorspezifische Proteine gebildet. Eine Störung der Komplexbildung in der frühen Phase der Translation bewirkt eine Hemmung der Initiation und damit der Proteinsynthese und kann konsekutiv zur Apoptose führen. In einigen in-vitro Versuchen bewirkte die Inkubation mit Taurolidin eine erhöhte Apoptoserate [12,48,56,70]. Aufgrund der geringen Molekülgröße von Taurolidin bzw. seinen wirksamen Metaboliten, sind zusätzliche intrazelluläre Pathomechanismen vorstellbar. Diese betreffen zum Beispiel die Produktion von TNF- α und IL-1 oder die Signalwege der Interleukine oder anderer Mediatoren. Das proinflammatorische Zytokin wird vor allem von Monozyten und Makrophagen produziert, zu einem geringeren Anteil aber auch durch Tumorzellen selbst auf einem auto- und parakrinen Weg. Durch eine erhöhte Eigenproduktion von TNF- α durch maligne Zellen ist es denkbar, dass es zu einer verminderten Apoptoserate kommt, die mit einer Aktivierung des induzierbaren Transkriptionsfaktors „Nuclear Factor kappaB“ (NF- κ B) verbunden ist [68]. NF- κ B spielt eine wichtige zentrale Rolle im Rahmen einer zellulären Reaktion auf diverse Stimuli. Dies können primäre pathogene Auslöser wie Viren, Bakterien oder oxidativer Stress sein. Weiterhin haben aber auch sekundäre pathogene Reize wie inflammatorische Zytokine eine aktivierende Wirkung. Der Prozess der Aktivierung ist von der IKK (IkappaB Kinase Komplex) –spezifischen Phosphorylierung von IkappaB alpha (IkB α) und dessen Ubiquitin-Abbau durch das Ubiquitin (Ub)/26S Proteasom-System abhängig [78]. Zusammen mit erhöhtem c-Jun wird die Produktion von TNF- α stabilisiert. In die Regulation dieser beiden Transkriptionsfaktoren sind das COP9-Signalosom (CSN) und das Ub/26S Proteasom System involviert. CSN phosphoryliert neben anderen Proteinen zusätzlich IkB α , was zu dessen Stabilisierung führt. Eine erhöhte Aktivität der COP9-Signalosom-assoziierten Kinase führt zu einem Abfall des Tumorsuppressors p53 und zu einem Anstieg des Protoonkogens und Transkriptionsfaktors c-Jun, was mit einer erhöhten Produktion des „Vascular Endothelial Growth Factor“ verbunden ist [61]. Braumann et al. konnten in molekularbiologischen Untersuchungen zeigen, dass Taurolidin in hohen Konzentrationen ab 1% die CSN-assoziierten Kinasen in vitro hemmt. Eine Stabilisierung intrazellulärer Substrate, wie die Transkriptionsfaktoren c-Jun und IkB α , durch Phosphorylierung wird hierdurch verhindert und die Proteine werden vermehrt dem Abbau durch das 26S Proteasom zugeführt [9]. Dies hat eine verminderte Produktion des für die Tumorgenese wichtigen Zytokins TNF- α und auch von VEGF zur Folge. Weiterhin konnte von einigen Autoren gezeigt werden, dass Taurolidin darüber hinaus durch die Aktivierung so genannter Caspasen direkt apoptose-induzierend auf Tumorzellen wirkt. Die Initiierung der Kaskade erfolgt über Fas/Fas-Ligand-Rezeptoren, an die Taurolidin bindet [73]. Die aktivierten Caspasen

3, 8 und 9 triggern eine zur Apoptose führende Signalkette, in der nachfolgend typische Veränderungen wie z.B. DNA-Doppelstrangbrüche und morphologische Zellveränderungen auftreten [12,38,46,48,70]. Über einen Cytochrom c-abhängigen Mechanismus kommt es zudem zu einer Destabilisierung der Mitochondrienmembranen [26]. Calabresi et al. konnten weiterhin einen hemmenden Einfluss auf intrazelluläre DNA-Reparaturmechanismen durch Spaltung von PARP-Proteinen nachweisen. Polymerasen stellen Reparaturenzyme dar, welche spezifisch an DNA-Strangbrüche binden [12] und stehen durch die Spaltung nicht mehr zum Aufhalten des programmierten Zelltodes zur Verfügung. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, dass in bisherigen Arbeiten nur eine apoptose-induzierende Wirkung auf maligne Zellen beobachtet werden konnte, pathologisch nicht veränderte Zellen und Gewebe aber unbeeinflusst bleiben [12,56,74]. Der genaue Wirkmechanismus, der zu dieser selektiven Apoptoseinduktion führt, ist bislang nicht bekannt, und gesicherte Experimente liegen nicht vor. Es ist möglich, dass eine Begrenzung des Tumorwachstums durch Taurolidin in ausreichend hoher Konzentration bei fortgeschrittenen Malignomen wie in unserer Arbeit somit über den proliferationshemmenden Effekt durch Apoptose ausgeübt werden könnte.

In dieser tierexperimentellen Arbeit verwendeten wir männliche BD IX-Ratten und applizierten 2×10^4 syngenetische DHD/K12/TRb-Kolonkarzinomzellen. Die intermittierende Applikation von Taurolidin in steigenden Konzentrationen von 1%, 2% und 3% erfolgte nach vier Wochen über den Zeitraum von einer Woche. Je nach Randomisierung der Tiere wurde die Therapie über einen intravenösen oder intraperitonealen Port appliziert. Aufgrund der sich summierenden Halbwertszeiten des wirksamen Metaboliten Taurultam von etwa 8 Stunden, erfolgte die Applikation dreimal täglich.

Die intravenöse, systemische Applikation von Taurolidin wirkte sich in höheren Dosen von 2% und 3% inhibierend auf das intraperitoneale Tumorwachstum aus. Im Vergleich zur Kontrollgruppe wurde in diesen beiden Therapiegruppen ein geringeres intraperitoneales Tumorgewicht festgestellt. Erfolgte die Behandlung mit 2% TRD, fand sich zudem auch die geringste Anzahl an intraperitonealen Tumorknoten. Auf das simulierte Fernmetastasenwachstum am Rücken der Tiere konnte kein hemmender Einfluss gezeigt werden. Allerdings war auch hier das subkutane Tumorgewicht bei der Therapie mit 2% Taurolidin i.v. am geringsten. Bei Betrachtung der prozentualen Gewichtsveränderung im Therapiezeitraum fiel auf, dass im Rahmen einer Gewichtsreduktion in allen Therapiegruppen die Abnahme am stärksten in der mit Ringer-Lösung behandelten Kontrollgruppe ausgeprägt war. Die mehrmaligen Applikationen scheinen hierfür jedoch nicht ausschlaggebend zu sein, zu

diskutieren ist eher eine vorstellbare prophylaktische Wirkung von Taurolidin auf entzündliche Reaktionen, die im Rahmen einer entstehenden Sepsis zu der beschriebenen Gewichtsabnahme in der Kontrollgruppe führen könnten. Unterstützt wird diese These durch die beiden von uns beobachteten Portkatheter-assoziierten Infektionen in der Kontrollgruppe. Bei der Gewichtsabnahme handelte es sich um einen transienten Prozess, der im Anschluss an den Therapiezeitraum in allen Gruppen kompensiert wurde. Obwohl die intravenösen Taurolidinapplikationen vorsichtig durchgeführt wurden (Infusionsdauer etwa 15 Sekunden für 1 ml), zeigte sich bei der Injektion von 3% Taurolidin bei einigen Tieren als Nebenwirkung eine temporäre Atemdepression mit Abnahme der Atemfrequenz und -tiefe.

Auch die lokale, intraperitoneale Applikation von Taurolidin zeigte im Vergleich der 2% TRD-Gruppe zur Kontrollgruppe einen hemmenden Einfluss in Bezug auf das intraperitoneale Tumorgewicht. Eine denkbare systemische Wirksamkeit bei lokaler Applikation durch Resorption durch das Peritoneum konnte bei Bewertung der subkutanen Tumorknoten nicht bestätigt werden. Das subkutane Fettgewebe stellt ein bradytrophes Gewebe dar, einhergehend mit einer vergleichsweise schlechten Durchblutung. Denkbar ist, dass aufgrund dieses Zusammenhanges keine wirksamen Taurolidinkonzentrationen zur Hemmung des subkutanen Tumorwachstums erzielt werden konnten, da diese an eine gute Vaskularisation des Gewebes gebunden sein könnten. Des Weiteren konnte im Experiment gezeigt werden, dass die Instillation von 3% Taurolidin - die Löslichkeitsgrenze - das intraperitoneale Tumorwachstum sogar in negativer Weise beeinflusst. Im Vergleich zu der mit 2% Taurolidin behandelten Gruppe wurde eine Erhöhung der Anzahl der Tumorknoten beobachtet. Die Tiere der 3% TRD-Gruppe wiesen hierbei zudem eine ausgeprägte Streuung der Tumorknotenanzahl auf. Vorstellbar ist eine starke lokale Reizung der peritonealen Mesothel-Oberfläche durch 3%iges Taurolidin, was zu vermehrter Adhäsion der Tumorzellen an geschädigter Oberfläche führen kann und infolgedessen das gesteigerte und disseminierte Tumorwachstum erklären könnte. Vergleichbare Daten fehlen bislang in der Literatur.

Bei der Untersuchung der prozentualen Gewichtsentwicklung im Anschluss an die Therapie zeigte sich in allen Gruppen eine vollständige Erholung von der Wachstumsverzögerung im Therapieintervall bis zum Zeitpunkt der Obduktion. Dies stellt einen Hinweis auf eine Therapie-unabhängige, durch den Stress der regelmäßigen Kurznarkosen und Infusionen bedingte Gewichtsabnahme dar. Ebenso ist die postoperativ gemessene Leukopenie mit anschließender (kompensatorischer) Leukozytose nicht auf die Therapie mit Taurolidin zurückzuführen, da sie in allen Gruppen nachweisbar war. Vielmehr ist der Leukozytenstatus durch den perioperativen Stress zu begründen, was auch der posttherapeutische Verlauf zeigt: die Leukozytenwerte kehren

auf einen präoperativen Level zurück. Neben der Tumorwachstumshemmung in höheren Konzentrationen stellt dies einen weiteren Vorteil von Taurolidin bei der Behandlung von fortgeschrittenen Tumoren dar.

Zusätzlich zu den beeindruckenden in-vitro und in-vivo Ergebnisse der Wirkung von Taurolidin auf die Entstehung und das Wachstum von intraperitonealen Tumoren in früheren Studien, zeigten die von uns ermittelten Daten einen Therapieerfolg bei palliativer lokaler und systemischer Chemotherapie mit Taurolidin bei fortgeschrittenen intra- und extraperitonealen Tumoren bei der Ratte. Sowohl die intravenöse als auch die intraperitoneale Applikation von 2% Taurolidin führte verglichen mit der Kontrollgruppe zu einem reduzierten intraperitonealen Tumorwachstum. In mehreren Studien, die mit den gleichen Tieren (BD IX Ratten) und Kolonkarzinomzellen (DHD/K12/TRb) im Hinblick auf die Beeinflussung von Tumoren im Frühstadium durchgeführt wurden, konnte eine proliferationshemmende und somit tumorsupprimierende Wirkung von Taurolidin bereits in niedrigen Konzentrationen von 0.5% gezeigt werden. Taurolidin scheint demnach seine größte antineoplastische Wirkung über die für die Tumoransiedlung und Metastasierung essentiellen Schritte wie Adhäsion und nachfolgender Neovaskularisation der Tumoren auszuüben. Weitere experimentelle Untersuchungen zum genaueren Verständnis einer denkbaren intrazellulären Wirkung von Taurolidin sind begonnen worden.

Vor allem die Taurolidintherapie mit 2% TRD führte unabhängig von der Applikationsart (intravenös oder intraperitoneal) zu einem reduzierten intraperitonealen Tumorwachstum im Vergleich zur Kontrollgruppe. Vorteilhaft ist zudem die geringe Toxizität von 2% Taurolidin.

Die von der Applikationsart unabhängige Therapie mit höherprozentigem Taurolidin kann aufgrund der beschriebenen Problematik der Auskristallisation von 3% und den in unserer Studie festgestellten Auswirkungen im Experiment nicht empfohlen werden. Weiterhin sprechen die Schwierigkeiten bei der Herstellung einer 3%-Taurolidinlösung (instabil, Neigung zur Ausfällung, Probleme bei der pH-Einstellung) gegen einen therapeutischen Einsatz.

Taurolidin 2% scheint daher am besten geeignet, das intraperitoneale Tumorwachstum von fortgeschrittenen Tumoren zu begrenzen.