

# 1 Einleitung

## 1.1 Kolorektale Karzinome

Das kolorektale Karzinom ist mit ca. 10-16% aller malignen Erkrankungen weltweit eine der häufigsten Neoplasien. Die Zahl der jährlichen Neuerkrankungen in Deutschland wird für Männer auf über 32 000, bei Frauen auf über 34 000 geschätzt. Nach dem Prostatakarzinom bei Männern und dem Mammakarzinom bei Frauen zählt das kolorektale Karzinom zu den zweithäufigsten Tumoren und bildet sowohl bei Männern als auch bei Frauen die zweithäufigste Krebstodesursache. Die 5-Jahres-Überlebenszeit ist vor allem vom Tumorstadium abhängig und nimmt im Mittel einen Wert von 53% ein [1]. Die Prognose verschlechtert sich beim Vorliegen von Fernmetastasen sowie beim Auftreten von postoperativen Lokal- und Anastomosenrezidiven. Die primäre Therapie kolorektaler Karzinome ist bis heute die chirurgische Resektion nach den Prinzipien der Karzinomchirurgie: En-bloc-Resektion des Primärtumors mit den organdrainierenden regionären Lymphknoten, radikale Ligatur der versorgenden Arterien und ableitenden Venen, Anwendung der No-touch-isolation-technique nach Turnbull [2]. Die Einführung und Akzeptanz der laparoskopischen Resektion in der kurativen Behandlung kolorektaler Karzinome im Vergleich zur konventionellen medianen Laparotomie erfolgte seit 1990 nur langsam. Gründe dafür sind im Umgang mit den veränderten, technisch anspruchsvolleren Operationsbedingungen sowie im Auftreten von spezifischen Komplikationen zu finden. Komplikationen beim Einsatz minimal invasiver Techniken beinhalten neben Organverletzungen beim Eindringen der Trokare auch die Möglichkeit eines Pneumothorax, eines Mediastinal- und Hautemphysems sowie das Auftreten postoperativer Schulterschmerzen. In Abhängigkeit von der Erfahrung des Operateurs, dem Alter des Patienten und der Indikation liegt die Morbidität dieser Komplikationen bei ca. 2 % [3,4]. Der Einfluss des Pneumoperitoneums auf kardiale [5-7] und respiratorische Parameter [8,9] sowie Auswirkungen auf andere Organsysteme sind reversibel und stellen keine erhöhten Risiken für Patienten dar. Auch die immunologischen Veränderungen, die in einigen Studien durch eine

verminderte systemische Inflammation und geringere Suppression der Immunantwort nach Laparoskopie [10-14] gekennzeichnet waren, in den Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen jedoch keinen Unterschied zur konventionellen Operationstechnik darstellten [15,16], korrelieren nicht mit dem postoperativen klinischen Verlauf. Den mit höheren Kosten und längeren Operationszeiten verbundenen minimal invasiven Techniken stehen verkürzte Rekonvaleszenzzeiten, ein geringerer Analgetikaverbrauch, eine verminderte Rate an Wundkomplikationen [17-19] und bessere kosmetische Ergebnisse gegenüber. Im kurzfristigen Verlauf werden postoperativ ferner eine bessere Lungenfunktion, eine kürzere Dauer der Darmatonie sowie ein vermindertes Schmerzempfinden beschrieben [20,21]. Prospektive Kohorten verdeutlichen, dass zwischen der Laparoskopie und Laparotomie kein Unterschied hinsichtlich der Prognose erkennbar ist [22-28]. Neuere Studien konnten belegen, dass die laparoskopische Kolektomie beim Kolonkarzinom sicher ist und akzeptable Operationsraten und Konversionsraten aufweist [29]. Kürzlich publizierte Daten einer großen prospektiv randomisierten Studie, die durch das US-National Cancer Institute im Jahr 1994 initiiert wurde, zeigen, dass die 5-Jahres-Überlebens- und Rezidivraten der laparoskopischen Resektion sich nicht von jener der offenen Chirurgie unterscheiden [30]. Aus diesem Grund kann die laparoskopische Resektion von Kolonkarzinomen durch ein erfahrenes Team heute als gleichwertig gegenüber dem offenen Verfahren angesehen werden.

## **1.2 Einfluss der laparoskopischen Chirurgie auf das Tumorwachstum**

Der Einsatz minimal invasiver Techniken in der Tumorchirurgie ist dennoch aufgrund von zahlreichen Berichten über Trokarmetastasen nach Kolon-, Magen-, okkulten Gallenblasen- und Magenkarzinomen [31-35] umstritten. Diese treten als schmerzhafte Vorwölbungen im Bereich der Narbe nach Punktionen, Biopsieentnahmen und Operationen auf, sind gekennzeichnet durch ein schnelles Wachstum und werden im Durchschnitt 6 Monate nach dem Eingriff diagnostiziert [36]. In den ersten Publikationen wurde die Rate

von Implantationsmetastasen nach laparoskopischen Resektionen mit bis zu 20 % angegeben [31,36]. Neuere Studien belegen, dass die Inzidenz dieser Metastasen mit 0.7 - 1.5 % in der Laparoskopie [30,37-39] keinen Unterschied zu konventionellen Verfahren mit entsprechender Rate von 0.6 - 1.6 % [40] aufweist.

Die Pathogenese der Inzisionsmetastasen konnte bisher nicht eindeutig geklärt werden. Die instrumentelle Manipulation des tumortragenden Organs und die damit verbundene Tumorzellverschleppung werden als Hauptursache der Metastasierung angesehen [36,41,42]. Die unterschiedliche Erfahrung des Operationsteams mit dem Einsatz minimal invasiver Techniken scheint dabei eine große Rolle zu spielen. Dies wurde durch Studien belegt, in denen der Lerneffekt des laparoskopisch tätigen Chirurgen mit einer verminderten Inzidenz von Trokarmetastasen einhergeht [26,43,44]. Da die alleinige Anwesenheit von Tumorzellen in der Abdominalhöhle jedoch nicht zwangsläufig eine Metastasierung zur Folge hat [45,46], müssen zusätzlich andere Faktoren als Auslöser des intra- und extraperitonealen Tumorwachstums, die in direktem Zusammenhang mit der Etablierung eines Pneumoperitoneums stehen, in Betracht gezogen werden. Diese Überlegung wird durch das Auftreten von Inzisionsmetastasen nach Staginglaparoskopien unterlegt, in denen keine intraoperative Manipulation des Tumors erfolgt war [32,34,35,35,35,36,47,48].

Bei der Betrachtung des Tumorwachstums in Abhängigkeit von Faktoren des Pneumoperitoneums wurde der Einfluss des Insufflationsgases sowie des intraabdominellen Druckes auf die Entwicklung von Trokarmetastasen in verschiedenen Studien mit kontroversen Ergebnissen untersucht. Während einige Arbeitsgruppen keinen stimulierenden Effekt von Kohlendioxid auf das Tumorwachstum feststellen konnten [49-52], berichtete Jacobi über eine Wachstumsstimulation von Kolonkarzinom-Zellen in vitro, ex vivo und in vivo [53]. Auch eine Wachstumsstimulation von Lebermetastasen konnte unter dem Einfluss eines Pneumoperitoneums mit CO<sub>2</sub> nachgewiesen werden [54,55]. Dies wurde ergänzt durch Berichte über die tumorsupprimierende Eigenschaft von Helium in vitro und in vivo bzw. dem Einsatz gasloser Laparoskopie

[11,47,49,50,56]. Auch bei der Betrachtung der Auswirkungen des intraabdominellen Druckes auf das Tumorwachstum ergaben sich unterschiedliche Theorien. Eine durch einen erhöhten intraabdominellen Druck ausgelöste Stimulation des Tumorwachstums konnte in verschiedenen Arbeitsgruppen demonstriert werden [57-59]. Während im Rattenmodell die Anzahl der Trokarmetastasen mit einem erhöhten intraabdominellen Druck korrelierte, kam es bei ähnlichen Bedingungen in vitro zu einer Suppression des Tumorzellwachstums [60]. Eine verstärkte Adhäsion von Kolonkarzinomzellen an artifizielle Basalmembranen unter erhöhtem Umgebungsdruck und das Durchdringen der Basalmembran nach Inkubation mit CO<sub>2</sub> [61] sprechen für ein erhöhtes Tumorwachstum nach einem Pneumoperitoneum.. Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Mesothels von Mäusen zeigen, dass Drücke von 6 mmHg den intrazellulären Kontakt zwischen den Zellen des Mesothels zerstören [62] und somit den Tumorzellen einen direkten Kontakt zur Basalmembran mit folgender Proliferation ermöglichen [63,64]. Dabei führt der erhöhte intraabdominelle Druck zu einer gestörten Mikrozirkulation mit einhergehender Ischämie des parietalen und visceralen Peritoneums [65]. Ischämische Regionen, in denen erhöhte Wachstumsfaktoren nachweisbar sind, stellen eine Prädisposition für lokale Tumorzellproliferationen dar [66], während ein intaktes Pneumoperitoneum eine Tumorzellimplantation verhindert [33,47,56]. Der Einfluss von Kohlendioxid, ein standardisiertes Insufflationsgas in laparoskopischen Operationen, auf das Tumorwachstum wird außerdem mit der Wirkung auf Zellfunktionen, Proliferation und Apoptose infolge intra- und extrazellulärer Azidose erklärt [67-69]. Weitere Auswirkungen der Kohlendioxidexposition sind in einer erhöhten Sekretion des TNF $\alpha$  [60,70], einer verstärkten Makrophagenaktivität [71-73] und einer Stimulation des Tumorwachstums [35,53,57,74] zu finden. Eine große Rolle spielt dabei die erhöhte Produktion intraperitonealer Zytokine (u.a. IL-1) [75,76], die einen Einfluss auf das Wachstum freier Tumorzellen [46,77] haben und eine perioperative Metastasierung durch Adhäsionen zwischen Tumorzellen und Peritoneum [78,79] vermitteln. Neben der Wirkung von CO<sub>2</sub> fördern auch die

lokalen Heilungsprozesse an einer Wundfläche die Adhäsion und das Tumorwachstum [78,80,81] durch eine vermehrte Expression von Adhäsionsmolekülen und die Freilegung extrazellulärer Proteine wie Laminin, Fibronectin und Vitronectin [81-84]. Dies wird durch Berichte bestätigt, in denen eine Stimulation des Tumorwachstums nach lokaler Ischämie bzw. Manipulation an Trokarinzisionen nachgewiesen wurde [56,85], während eine einfache Naht die Entstehungsrate der Absiedlungen um bis zu 60 % senkte [86]. Die Anlagerung von Tumorzellen an die umgebende Matrix (Laminin und Fibronectin) ist ein erster Schritt in dem multifaktoriellen Geschehen einer Metastasierung. Während der anschließenden Invasion, Destruktion, Intra- und Extravasation sowie der Neoangiogenese muss die Tumorzelle in der Lage sein, Zell-zu-Zell- und Zell-zu-Matrix-Adhäsionen herunter zu regulieren oder zu verstärken [87,88]. Neben der bereits erwähnten Stimulation von Wachstumsfaktoren wie IL-1 durch Kohlendioxid, das sowohl in Monozyten als auch in Peritonealmakrophagen synthetisiert wird [77,89,90], sind Zelladhäsionsmoleküle an einigen Schritten der malignen Progression beteiligt [91,92].

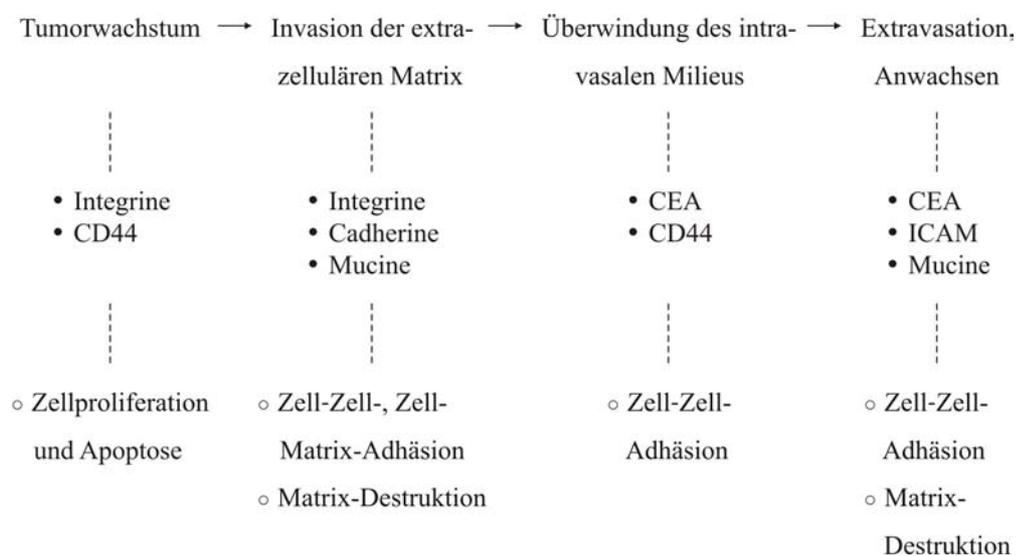


Abbildung 1 :Darstellung der Rezeptoren, die mit dem Wachstum und der Progression des kolorektalen Karzinoms assoziiert sind

Veränderte Expressionen von tumor-assoziierten Zelladhäsionsmolekülen, wie

E-Cadherin, CD44 und Integrin, werden in verschiedenen gastrointestinalen Tumoren hinsichtlich der Metastasierung, Invasivität und Tumorprogression beobachtet [93-100]. E-Cadherin ist der wichtigste Mediator der interzellulären Adhäsion von Epithelzellen, der entscheidend die Induktion und Aufrechterhaltung der Zellpolarität sowie Differenzierung *in vitro* und in reifen epithelialen Geweben beeinflusst [101]. Da eine reduzierte interzelluläre Adhäsion von Karzinomzellen häufig mit einer Reduktion bzw. einem Verlust der E-Cadherin-Expression einhergeht, scheint der funktionelle Verlust von E-Cadherin eine Rolle in der Tumorausbreitung zu spielen [96-99,102,103]. Eine Suppression der E-Cadherin-Expression kann ebenfalls unter dem Einfluss von Kohlendioxid beobachtet werden [104,105]. CD44, involviert in Zell-Zell- und Zell-Matrix-Interaktionen, gehört zur Familie der Hyaluronsäure-bindenden Hyaladherine. Der Einfluss von CD44 und seinen varianten Isoformen auf die Metastasierung von Tumorzellen ist umstritten [106]. In den meisten humanen Tumoren, so auch im kolorektalen Karzinom, kann eine erhöhte Expression festgestellt werden [107-109], die mit einer Tumorprogression und Metastasierung korreliert [107,110,111]. Einige Untersuchungen hinsichtlich des erhöhten metastatischen Potentials beschreiben eine Diskrepanz der Expression verschiedener CD44-Isoformen [95,100,112,113], die sich auch unter dem Einfluss eines Pneumoperitoneums fortsetzt [104]. Integrine scheinen die wichtigsten Adhäsionsmoleküle bei Interaktionen zur Extrazellulärmatrix und wichtige Adhäsionsmoleküle bei Zell-Zell-Verbindungen zu sein [114]. Neben dem Tumorwachstum, der Metastasierung, der Tumorangiogenese und der Tumorummunologie sind sie an verschiedenen Prozessen der Signaltransduktion beteiligt [83,115,116]. Transformierte Zellen oder Tumore sind häufig gekennzeichnet durch eine modifizierte  $\beta$ 1-Integrin-Expression, insbesondere  $\alpha$ 5 $\beta$ 1-Integrin, dessen Funktion in der Wachstumssuppression begründet ist [117]. Die Wirkung eines Pneumoperitoneums auf die  $\beta$ 1-Integrin-Expression wurde von Basson et al. untersucht, der eine  $\beta$ 1-Integrin vermittelte Adhäsionssteigerung von unterschiedlichen Kolonkarzinomzell-Linien bei einem erhöhten Umgebungsdruck (15 mmHg) feststellte [61].

### **1.3 Therapeutische Substanzen zur Verhinderung von intra- und extraperitonealem Tumorwachstum in der Laparoskopie**

Neben der beschriebenen chirurgischen Technik durch ein erfahrenes Operationsteam wurden in verschiedenen tierexperimentellen Studien Substanzen untersucht, die eine Tumorzellverschleppung und Tumormetastasierung zusätzlich verhindern können. Angelehnt an die Spülung des Bauchraumes in der konventionellen Chirurgie zur mechanischen Entfernung freier Tumorzellen aus der Peritonealhöhle bei der Resektion von malignen Tumoren, wurden in der Laparoskopie antiadhärente und zytotoxische Substanzen mittels Peritoneallavage zur Metastasenreduktion eingesetzt. Die alleinige intraperitoneale Applikation von Heparin führte im Tiermodell zu einer signifikanten Reduktion des intraperitonealen Tumorgewichtes unterschiedlicher Tumorzellen [56,78,85,118]. Die antitumoröse Wirkung, die nicht durch eine Wachstumssuppression ausgelöst wird [119], basiert auf einer verminderten Adhäsion und Implantation freier Tumorzellen [67,78]. Eine Kombination von Heparin mit zytotoxischen Substanzen initiiert daher eine Wirkungsverstärkung bei lokaler Anwendung in Zell- und Tierexperimenten [67]. Durch die intraperitoneale Applikation des zytotoxischen PVP-Jod konnte ebenfalls eine Reduktion der Trokarmetastasen erreicht werden [67,119-121]. Aufgrund der gravierenden Nebenwirkungen wie einer Herabsetzung der lokalen Immunabwehr durch Schädigung der Peritonealmakrophagen und ausgeprägten Adhäsionen [67] werden PVP-Jod sowie das untersuchte Cyclophosphamid [78] und Methotrexat [120] nicht für einen therapeutischen Einsatz empfohlen. Ein weiteres Chemotherapeutikum, das seit 1975 in der septischen Abdominalchirurgie und seit 1980 in der Traumatologie als chirurgische Spüllösung zur Behandlung von Infektionen angewandt wird, ist Taurolidin, ein Derivat der Aminosäure Taurin. Seine antibakterielle Wirkung, die durch Übertragung von Hydroxymethylgruppen an der Zellwand zu einer Teilung des Bakteriums führt [77,122], wird auch als Pathomechanismus der Tumorsuppression diskutiert [67,119,120]. In mehreren tierexperimentellen Studien konnte der tumorsupprimierende Effekt dieser Substanz nachgewiesen werden [67,119,120,123-126]. Neben der direkten

intraperitonealen Wachstumshemmung an den Tumorzellen selbst [119], sind indirekte Wirkmechanismen denkbar. Taurolidin hemmt die Expression wachstumsfördernder Zytokine, wie z.B. IL-1, und ist an der Hemmung der LPS-induzierten TNF $\alpha$ -Produktion in mononukleären Zellen beteiligt [77]. LPS und TNF $\alpha$  beeinflussen selbst direkt die Tumorzelladhäsion durch eine Stimulation verschiedener Adhäsionsmoleküle [127,128]. Zusätzlich zur Induktion der Apoptose oder des programmierten Zelltodes von Tumorzellen [126,129-132] ist vor kurzem eine Suppression der Proteinbiosynthese nach Taurolidinexposition [133] beschrieben worden. Selbst bei hohen Dosen wurden für die Substanz bisher außerordentlich geringe unerwünschte Wirkungen erfasst [134-136]. Die Kombination von Taurolidin und Heparin zeigte in Tierversuchen mit minimal invasiven Eingriffen eine synergistische supprimierende Wirkung auf das intra- und extraperitoneale Tumorstadium [78,106,129,137].

Da die Adhäsion von Tumorzellen ein entscheidender Schritt im multifaktoriellen Geschehen der Metastasierung ist, könnten theoretisch auch andere Substanzen, die der Adhäsionsprophylaxe dienen, zur Verhinderung einer perioperativen Metastasierung eingesetzt werden. In mehreren klinischen und experimentellen Studien konnte eine signifikante Verminderung postoperativer Adhäsionen durch oxygenierte Cellulose, eine mechanische Barriere, sowie durch die antiadhärent wirkende Substanz 0.5% Eisenhyaluronat-Gel erreicht werden [138-147], die ihren Einsatz in der Adhäsionsprophylaxe der Gynäkologie und Chirurgie haben. Die oxygenierte Cellulose (Interceed) verhindert aufgrund ihrer Anlagerung an die peritoneale Oberfläche die Inzidenz postoperativer Adhäsionen [148-152]. Durch die Applikation der Intergel-Lösung wird ebenfalls ein visköser Überzug des Peritoneums geschaffen, der eine Anlagerung von Fibrin und Zellen während der kritischen Phase der Fibrinbildung bei Peritonealverletzung stark verringert. Intergel, als Hyaluronsäure-Gel ein natürlicher Ligand des Adhäsionsmoleküls CD44, konnte in verschiedenen experimentellen und klinischen Studien postoperative intraperitoneale Adhäsionen verhindern

[145,147]. Die Eisenmodifikation des Intergels führt zu einer längeren Halbwertszeit, die sich auf die Verweildauer in der Peritonealhöhle positiv auswirkt. Der Einfluss dieser beiden antiadhärenten Substanzen auf das Anwachsen freier Tumorzellen nach Resektionen maligner Tumoren ist bislang nicht untersucht worden.