

Aus dem Institut für Tierpathologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Der Einfluss der Xanthinoxidasehemmer
Allopurinol und Oxypurinol auf Gewichtsverlauf,
Körperzusammensetzung und spontane Aktivität
in einem Rattenmodell der Tumorkachexie**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

KAI HARTMANN

Tierarzt aus Siegen

Berlin 2009

Journal-Nr.: 3308



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2010

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2010

© 2010 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

**Aus dem Institut für Tierpathologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Der Einfluss der Xanthinoxidasehemmer Allopurinol
und Oxypurinol auf Gewichtsverlauf,
Körperzusammensetzung und spontane Aktivität in
einem Rattenmodell der Tumorkachexie**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin**

vorgelegt von

**Kai Hartmann
Tierarzt aus Siegen**

Berlin 2009

Journal-Nr.: 3308

**Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. L. Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. A. Gruber
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Dr. S. D. Anker
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. H. Thönhardt

Deskriptoren: rats, liver, neoplasms, cachexia, xanthine oxidase, allopurinol, beta-adrenergic receptors, beta-blockers, bisoprolol (MeSH), Carcinoma, Hepatocellular (MeSH), reactive oxygen species (MeSH)

Tag der Promotion: 18.11.2009

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VIII
Einleitung	1
1 Literaturübersicht	2
1.1 Kachexie	2
1.2 Tumorkachexie	2
1.2.1 Epidemiologie der Tumorkachexie.....	2
1.2.2 Pathophysiologie der Tumorkachexie	3
1.2.3 Therapie der Tumorkachexie	13
1.3 Allopurinol und Oxypurinol	16
1.4 Bisoprolol	21
2 Material und Methoden	24
2.1 Tiere und Tierhaltung.....	24
2.1.1 Tiere	24
2.1.2 Haltung.....	24
2.2 Tumor.....	25
2.3 Substanzen	25
2.3.1 Allopurinol	25
2.3.2 Oxypurinol	26
2.3.3 Bisoprolol	26
2.3.4 Placebo	27
2.4 Versuchsplan	27
2.5 Methoden	28
2.5.1 Medikamentenapplikation	28
2.5.2 Gewichtsmonitoring.....	28
2.5.3 Monitoring von Futteraufnahme und Bewegungsaktivität	28
2.5.4 Magnetresonanz-Spektroskopie	29
2.5.5 Echokardiographie	29

2.5.6 Tötung und Organentnahme	31
2.5.7 Ermittlung der Tumorzellzahl	32
2.5.8 Statistische Auswertung.....	32
3 Ergebnisse.....	34
3.1 Placebo-Versuch.....	34
3.2 Monotherapie Sham-Versuch	37
3.3 Monotherapie Tumor-Versuch	40
3.3.1 Tumorwachstum.....	40
3.3.2 Überleben.....	41
3.3.3 Gewicht und Körperzusammensetzung	42
3.3.4 Innere Organe, Fettgewebe und Skelettmuskulatur.....	48
3.3.5 „Quality of life“	49
3.3.6 Echokardiographie	51
3.4 Kombinationstherapie Tumor-Versuch	53
3.4.1 Tumorwachstum.....	53
3.4.2 Überleben.....	54
3.4.3 Gewicht und Körperzusammensetzung	56
3.4.4 Innere Organe, Fettgewebe und Skelettmuskulatur.....	62
3.4.5 „Quality of life“	64
3.4.6 Echokardiographie	66
4 Diskussion.....	69
4.1 Placebo-Versuch.....	69
4.2 Monotherapie Sham-Versuch	73
4.3 Monotherapie Tumor-Versuch	74
4.3.1 Tumorwachstum.....	74
4.3.2 Überleben.....	76
4.3.3 Gewicht und Körperzusammensetzung	77
4.3.4 Innere Organe, Fettgewebe und Skelettmuskulatur.....	79
4.3.5 „Quality of life“	84
4.3.6 Echokardiographie	86
4.3.7 Resümee des Monotherapie Tumor-Versuchs	87
4.4 Kombinationstherapie Tumor-Versuch	94
4.4.1 Tumorwachstum.....	94
4.4.2 Überleben.....	95

4.4.3 Gewicht und Körperzusammensetzung	96
4.4.4 Innere Organe, Fettgewebe und Skelettmuskulatur	98
4.4.5 „Quality of life“	99
4.4.6 Echokardiographie.....	100
4.4.7 Resümée des Kombinationstherapie Tumor-Versuchs	101
5 Zusammenfassung	103
6 Summary.....	104
7 Literaturverzeichnis	105
Publikationsverzeichnis.....	122
Danksagung.....	123
Selbständigkeitserklärung.....	124

Abkürzungsverzeichnis

Δ	Differenz
15-HETE	15-Hydroxyeikosatetraensäure
Abb.	Abbildung
ACE	angiotensin-converting-enzyme (engl.)
AH-130	Aszites Hepatom 130
AIDS	acquired immunodeficiency syndrome (engl.)
ANOVA	Varianzanalyse (analysis of variance, engl.)
ANP	Atriales Natriuretisches Peptid
AP-1	Transkriptionsfaktor
APR	Akute-Phase-Reaktion
ATP	Adenosintriphosphat
B-Mode	brightness-Modus
BT	bakterielle Translokation
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat (cyclic AMP, engl.)
CHI	chronische Herzinsuffizienz
CI	Konfidenzintervall (confidence interval, engl.)
CIBIS	cardiac insufficiency bisoprolol study (engl.)
CNTF	ciliary neurotrophic factor (engl.)
CO	Herzminutenvolumen (cardiac output, engl.)
COX2	Cyclooxygenase 2
CP*	Carboxy-Proxylradikal
CRP	C-reaktives Protein
d	Tag(e)
dia	diastolisch
DGC	dystrophin-glycoprotein-complex (engl.)
DNA	Desoxyribonukleinsäure (desoxyribonucleic acid, engl.)
E3 α -II	E3-Ligase
EDL	Musculus extensor digitorum longus
EF	Auswurfs-/Ejektionsfraktion (ejection fraction, engl.)
eNOS	endothelial nitric oxide synthase (engl.)
EPA	Eikosapentaensäure (eicosapentaenoic acid, engl.)
EPO	Erythropoetin
EPR	Elektronenspinresonanz
FFA	freie Fettsäuren (free fatty acids, engl.)
FoxO-1	Transkriptionsfaktor
FS	Verkürzungsfraktion (fractional shortening, engl.)
GV-SOLAS	Gesellschaft für Versuchstierkunde - Society for Laboratory Animal Science
HIF-1 α	hypoxia inducible factor 1 α (engl.)
HSL	Hormon-sensitive Lipase
HTC	Hepatomzellen der Ratte
HWZ	Halbwertszeit
IFN- γ	Interferon γ
IGF-1	insulin-like growth factor 1 (engl.)
IL	Interleukin
I κ B	Inhibitor-Protein kappa B
IKK	I κ B-Kinase-Komplex
iNOS	inducible nitric oxide synthase (engl.)

ISA	intrinsische sympathomimetische Aktivität
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (engl.)
IVS	interventrikuläres Septum
Kap.	Kapitel
LIF	leucemia inhibitory factor (engl.)
LMF	lipid mobilizing factor (engl.)
LPL	Lipoprotein-Lipase
LPS	Lipopolysaccharid / Endotoxin
LV	linker Ventrikel
LVEDD	links-ventrikulärer end-diastolischer Durchmesser
LVESD	links-ventrikulärer end-systolischer Durchmesser
LVPW	Hinterwand des linken Ventrikels (left ventricle posterior wall, engl.)
M.	Muskel
MAC 16/26	Adenokarzinome der Maus
MAFbx	E3-Ligase
M-Mode	time/motion-Modus
mRNA	Boten-Ribonukleinsäure (messenger RNA, engl.)
MuRF-1	E3-Ligase
MV E/A	Parameter des Blutflusses durch die Mitralklappe
MyoD	Transkriptionsfaktor
n	Anzahl
NF _κ B	Transkriptionsfaktor (Nukleärer Faktor kappa B)
NMR	Kernspinresonanz (nuclear magnetic resonance, engl.)
NPY	Neuropeptid Y
ns	nicht signifikant
p	statistisches Maß für die Wahrscheinlichkeit
PIF	proteolysis inducing factor (engl.)
POMC-CART	proopiomelanocortin-/cocaine and amphetamine regulated transcript (engl.)
REE	Ruheenergieumsatz (resting energy expenditure, engl.)
ROS	Sauerstoffradikale (reactive oxygen species, engl.)
RT-PCR	Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (reverse transcriptase polymerase chain reaction, engl.)
s.	siehe
SPF	spezifiziert pathogenfrei
STAT 3	Transkriptionsfaktor
sTNFR-1/-2	löslicher TNF-Rezeptor-1/-2 (soluble TNFR-1/-2, engl.)
sys	systolisch
Tab.	Tabelle
TNF-α	Tumor-Nekrose-Faktor α
UCP	Uncoupling-Protein
UKCCCR	UK Co-ordinating Committee on Cancer Research (engl.)
XDH	Xanthindehydrogenase
XO	Xanthinoxidase
XOR	Xanthinoxidoreduktase
ZAG	Zink-α ₂ -Glykoprotein

Abbildungsverzeichnis

	Seite
Kapitel 2. Material und Methoden	
Abb. 2.1 Strukturformel Allopurinol	25
Abb. 2.2 Strukturformel Oxypurinol	26
Abb. 2.3 Strukturformel Bisoprolol	26
Abb. 2.4 „Supermex“-Lokomotor-System, Muromachi Kikai Co.	29
Abb. 2.5 Lagerung für die echokardiographische Untersuchung	30
Kapitel 3.3 Monotherapie Tumorversuch	
Abb. 3.1 Tumorflüssigkeit in der Bauchhöhle	40
Abb. 3.2 Mittlere Zellzahl in der Tumorflüssigkeit	40
Abb. 3.3 Kaplan-Meier-Darstellung der Mortalität	41
Abb. 3.4 Mittleres Körpergewicht an Tag 0	43
Abb. 3.5 Mittleres Körpergewicht ohne Tumor zum Tötungszeitpunkt	43
Abb. 3.6 Mittlerer Gewichtsverlust über den Versuchszeitraum	44
Abb. 3.7 Mittlerer Gewichtsverlust pro Tag	44
Abb. 3.8 Mittlerer Verlust an fettfreier Masse über den Versuchszeitraum	45
Abb. 3.9 Mittlerer Verlust an fettfreier Masse pro Tag	45
Abb. 3.10 Mittlerer Verlust an Fettmasse über den Versuchszeitraum	46
Abb. 3.11 Mittlerer Verlust an Fettmasse pro Tag	46
Abb. 3.12 Mittleres Gewicht des retroperitonealen weißen Fettgewebes	48
Abb. 3.13 Futteraufnahme an Tag 10	50
Abb. 3.14 Mittlerer Rückgang der spontanen Aktivität an Tag 10 des Versuchsprotokolls, verglichen mit der spontanen Aktivität vor Tumorinokulation	50
Kapitel 3.4 Kombinationstherapie Tumorversuch	
Abb. 3.15 Tumorflüssigkeit in der Bauchhöhle	54
Abb. 3.16 Mittlere Zellzahl in der Tumorflüssigkeit	54
Abb. 3.17 Kaplan-Meier-Darstellung der Mortalität	55
Abb. 3.18 Mittleres Körpergewicht an Tag 0	57
Abb. 3.19 Mittleres Körpergewicht ohne Tumor zum Tötungszeitpunkt	57
Abb. 3.20 Mittlerer Gewichtsverlust über den Versuchszeitraum	58
Abb. 3.21 Mittlerer Gewichtsverlust pro Tag	58
Abb. 3.22 Mittlerer Verlust an fettfreier Masse über den Versuchszeitraum	59
Abb. 3.23 Mittlerer Verlust an fettfreier Masse pro Tag	59
Abb. 3.24 Mittlerer Verlust an Fettmasse über den Versuchszeitraum	60
Abb. 3.25 Mittlerer Verlust an Fettmasse pro Tag	60
Abb. 3.26 Mittleres Herzgewicht	62
Abb. 3.27 Mittleres Gewicht des retroperitonealen weißen Fettgewebes	64
Abb. 3.28 Futteraufnahme an Tag 10	65

Abb. 3.29 Mittlerer Rückgang der spontanen Aktivität an Tag 10 des Versuchsprotokolls, verglichen mit der spontanen Aktivität vor Tumordinokulation	65
Kapitel 4. Diskussion	
Abb. 4.1 Übersicht einiger Wirkmechanismen der Xanthinoxidase	90

Tabellenverzeichnis

	Seite
Kapitel 3.1 Placebo-Versuch	
Tab. 3.1 Placebo Sham vs. Placebo Tumor	35
Tab. 3.2 Placebo Sham vs. Placebo Tumor: Echokardiographische Parameter	36
Kapitel 3.2 Monotherapie Sham-Versuch	
Tab. 3.3 Monotherapie Sham-Versuch: Gewicht, fettfreie Masse, Fettmasse	37
Tab. 3.4 Monotherapie Sham-Versuch: „quality of life“ und Organgewichte	38
Tab. 3.5 Monotherapie Sham-Versuch: Echokardiographische Parameter	39
Kapitel 3.3 Monotherapie Tumor-Versuch	
Tab. 3.6 Überlebensanalyse: Monotherapie Tumor (T) vs. Placebo T	42
Tab. 3.7 Monotherapie Tumor (T)-Versuch: Gewicht, fettfreie Masse, Fettmasse	47
Tab. 3.8 Monotherapie Tumor (T)-Versuch: „quality of life“ und Organgewichte	49
Tab. 3.9 Monotherapie Tumor (T)-Versuch: Echokardiographische Parameter	52
Kapitel 3.4 Kombinationstherapie Tumor-Versuch	
Tab. 3.10 Überlebensanalyse: Kombinationstherapie Tumor (T) vs. Placebo T	55
Tab. 3.11 Kombinationstherapie Tumor (T): Gewicht, fettfreie Masse, Fettmasse	61
Tab. 3.12 Kombinationstherapie Tumor (T): „quality of life“ und Organgewichte	63
Tab. 3.13 Kombinationstherapie Tumor (T): Echokardiographische Parameter	67

Einleitung

Das Wachstum eines Tumors kann mit der Ausprägung einer Kachexie einhergehen. Die Entwicklung eines kachektischen Geschehens ist als negativer prognostischer Marker anzusehen. Welche Signalwege und Mediatoren eine Kachexie vermitteln ist bisher nicht vollständig geklärt.

Bei verschiedenen Tumortypen konnte eine gesteigerte Aktivität des Enzyms Xanthinoxidase nachgewiesen werden, dies bewirkt eine erhöhte Produktion von Sauerstoffradikalen und Harnsäure. Dies geht wiederum mit einer Steigerung der systemischen Immunreaktion einher und könnte an der Entstehung einer Kachexie ursächlich beteiligt sein. In der vorliegenden Arbeit soll daher die Wirkung von Xanthinoxidase-Inhibitoren im Hinblick auf die Entwicklung eines kachektischen Geschehens im Rahmen einer Tumorerkrankung überprüft werden. Zu diesem Zweck wurden Ratten mit einem Kachexie-erzeugenden Hepatom einer Behandlung mit Allopurinol und Oxypurinol unterzogen.

Tumorpatienten weisen zudem eine erhöhte adrenerge Aktivität und eine gesteigerte Sensitivität der β_1 -Adrenozeptoren auf. Dies könnte über eine Erhöhung des Energieumsatzes und weitere Wirkungen an der Ausprägung einer Kachexie beteiligt sein. Bisoprolol ist ein hochspezifischer β_1 -Antagonist und vermindert die sympathomimetische Wirkung adrenerger Agonisten. In einem zweiten Versuchsaufbau wird daher die günstigste Dosierung des Monotherapie-Versuchs in Kombination mit Bisoprolol gegeben. Die Ergebnisse dieser Behandlung werden den Einzelmedikationen gegenübergestellt und hinsichtlich bestehender synergistischer Effekte untersucht.

1 Literaturübersicht

1.1 Kachexie

Der Begriff der Kachexie leitet sich aus dem Griechischen ab und bezeichnet ursprünglich ganz allgemein einen schlechten körperlichen Zustand.

Eine 2007 vorgestellte Definition beschreibt Kachexie als ein mit einer zugrundeliegenden Erkrankung einhergehendes, komplexes metabolisches Syndrom, das durch Muskelverlust mit oder ohne Rückgang der Fettmasse charakterisiert ist [1]. Auch andere Autoren sehen einen zunehmenden Verlust an Skelettmuskulatur in Verbindung mit Anzeichen einer chronischen Entzündungsreaktion als charakteristisches Merkmal der Kachexie [2]. Der Abbau der Skelettmuskulatur geht hier mit einer verstärkten Syntheserate der Akute-Phase-Proteine (APP) einher [3]. Als weitere Anzeichen der bei Tumor-Patienten [4], Patienten mit AIDS [5] und mit Herzinsuffizienz [6] ebenso wie bei Patienten mit fortgeschrittener Niereninsuffizienz [7] auftretenden Kachexie sind Anorexie, Insulin-Resistenz, Anämie und Verlust an Fettmasse beschrieben [1, 8, 9].

Kachexie unterscheidet sich somit von Unterernährung, welche hauptsächlich durch eine verstärkte Fettmobilisation des Körpers beantwortet wird und durch Nahrungszufuhr reversibel ist [8]. Tierstudien nach dem „pair-fed“-Prinzip zeigten, dass der Verlust an Skelettmuskulatur nicht nur auf die verringerte Nahrungszufuhr zurückzuführen sein kann. Vielmehr ist er die Konsequenz einer komplexen metabolischen Umstellung des Körpers, in die verschiedene Wege der Signaltransduktion involviert sind [8].

Bei Tumorerkrankungen geht das Auftreten von Kachexie mit einer Erhöhung von Morbidität und Mortalität einher [10]. Negative Auswirkungen wurden ebenfalls bei kachektischen Patienten mit Herzinsuffizienz [11] und AIDS [12] beschrieben.

1.2 Tumorkachexie

1.2.1 Epidemiologie der Tumorkachexie

Kachexie ist eine häufige Begleiterscheinung von Tumoren, welche bei bis zu 80% der Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung auftritt [13]. Die Inzidenz ist abhängig

von der Art des Tumors, der höchste Wert findet sich bei Pankreas- und Magenkarzinomen, während Patienten mit Mammakarzinom oder Sarkom Kachexie mit einer Inzidenz von 40% aufweisen [14]. Allerdings sind innerhalb einer Gruppe von Patienten mit gleichem Tumortyp unterschiedlich starke Ausprägungen der Kachexie zu beobachten, was darauf hinweist, dass Phänotyp des Tumors und Genotyp des Patienten ebenso wie die Interaktion zwischen Tumor und Patient von Bedeutung sind [15, 16]. Kachexie führt bei bis zu 20% der Tumor-Patienten zum Tod [13]. Bei im fortgeschrittenen Stadium an Pankreaskarzinom Erkrankten konnte eine deutliche, inverse Korrelation zwischen Gewichtsverlust und Überleben nachgewiesen werden [14].

1.2.2 Pathophysiologie der Tumorkachexie

Zentrale Symptome der Tumorkachexie sind Anorexie, Gewichtsverlust und Abnahme der Muskel- wie auch der Fettmasse, daraus resultierend zunehmende Schwäche [8]. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind komplex und noch nicht vollständig verstanden. Zentraler Bestandteil der Pathogenese ist eine chronische Entzündungsreaktion des Körpers, eine ursächliche Beteiligung der Produktion kataboler Faktoren durch den Tumor wird diskutiert [17-19]. Eine tumor-assoziierte Freisetzung pro-inflammatorischer Mediatoren könnte der Genese der Entzündungsreaktion zugrunde liegen. Auch eine Beteiligung von Endotoxin infolge einer durch Beeinträchtigung der Herzfunktion verringerten Darmpermeabilität ist denkbar [20].

Anorexie

Anorexie ist ein häufig anzutreffendes Symptom, je nach Studie tritt sie bei 15-40% [21] oder bei über 50% [22] der Tumorpatienten auf. Sie kann nicht die alleinige Ursache der Kachexie sein, da weder Zuführung von Nährstoffen noch pharmakologische Anregung des Appetits den Verlust an fettfreier Masse verhindern können [23, 24]. Zudem kann sich eine Kachexie auch ohne Auftreten einer Anorexie entwickeln. Die Ausprägung einer Anorexie trägt in der Folge aber zum weiteren Verlauf der Kachexie bei. Anorexie resultiert aus Veränderungen der die Nahrungsaufnahme kontrollierenden Signaltransduktionswege [22]. Diese beinhalten die Regulation durch Hormone wie Leptin und Ghrelin sowie durch Neurotransmitter wie Serotonin, welche wiederum über die Beeinflussung von NPY (Neuropeptid Y) oder

POMC/CART (Pro-Opiomelanocortin/Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript) am Hypothalamus wirken [8]. Tumortragende Ratten zeigten sich resistent gegenüber der direkten Injektion von NPY in den Hypothalamus, was auf eine Änderung der Sensitivität oder der Dichte der Rezeptoren hindeutet [25]; in einer anderen Studie konnte eine verminderte Anzahl NPY-immunreaktiver Neurone in anorektischen Ratten verglichen mit nicht-anorektischen Tieren nachgewiesen werden [26]. Bestimmte Zytokine wie Interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6 oder Tumornekrose-Faktor- α (TNF- α) sind von großer Bedeutung für die Dysregulation dieser Systeme [27-29], da sie die Blut-Hirn-Schranke überwinden können und zu einer Verminderung des Appetits führen [9]. Tumorkachexie geht ferner mit erhöhten Tryptophan-Spiegeln in Plasma und Gehirn einher. Dies führt zur gesteigerten Bildung von Serotonin, welches wiederum das Sättigungsgefühl vermittelt [30, 31]. Es wird deutlich, dass die Tumoranorexie multifaktoriell bedingt ist und die meisten der die Energiezufuhr modulierenden Signalwege beteiligt sind [2].

Mediatoren

In einem parabiotischen Versuch an der Ratte konnte gezeigt werden, dass das tumortragende Tier eine Kachexie im gesunden Tier auslösen konnte [32]. Es erscheint daher plausibel, die Umstellungen des Stoffwechsels als Resultat zirkulierender Mediatoren anzusehen, welche von Tumor oder Wirtskörper produziert wurden [33].

Von einigen Tumoren ist bekannt, dass sie bestimmte Zytokine [34] oder Hormone produzieren. Die Tumorkachexie wird daher von manchen Autoren den paraneoplastischen Syndromen zugeordnet [35]. Auch durch die Interaktion zwischen Tumor und Wirt kann eine Beeinflussung der Zytokin-Konzentrationen ausgehen. So erhöht beispielsweise von humanen Pankreaskarzinomen und murinen Adenokarzinomen (MAC16) produzierter Proteolysis-Inducing-Factor (PIF) *in vitro* die Produktion von IL-6, IL-8 und C-reaktivem Protein (CRP) in humanen Hepatozyten [36]. Eine steigende Plasmakonzentration an Akute-Phase-Proteinen wie CRP ist typisch für entzündliche Reaktionen.

Studien mit Zytokin-Antikörpern, mit Zytokin-Rezeptor-Antagonisten oder mit Rezeptor-Knockout-Mäusen weisen auf eine Beteiligung pro-inflammatorischer Zytokine an der Pathogenese der Tumorkachexie hin [2]. Einige proinflammatorische Zytokine wie TNF- α , IL-1, IL-6, Interferon- γ (IFN- γ), Ciliary Neurotrophic

1 Literaturübersicht

Factor (CNTF) und Leukemia-Inhibitory-Factor (LIF) rufen im Tierversuch Symptome einer Kachexie, namentlich Anorexie, Gewichtsverlust, Auftreten einer Akute-Phase-Reaktion, Protein- und Fettabbau, erhöhte Konzentrationen an Cortisol und Glukagon sowie eine erniedrigte Insulin-Konzentration, Insulin-Resistenz, Anämie, Fieber und Erhöhung des Energieumsatzes hervor [37-42].

Einige Zytokine, beispielsweise IL-6, können die Signalübertragung von Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) und Growth Hormone (GH) inhibieren [43, 44], die Proteinsynthese vermindern oder den Abbau von Proteinen in der Skelettmuskulatur verstärken [45]. TNF- α und auch IFN- γ bewirken eine verstärkte Expression von Teilen der Proteolyse-Kaskade [46, 47]. Sie potenzieren wechselseitig ihre Wirkungen, zusammen verabreicht konnten sie *in vitro* eine verstärkte Proteolyse induzieren, während dieser Effekt bei Einzelverabreichung nicht zu sehen war [48]. Hemmung der Produktion von TNF- α mittels Pentoxyphyllin führte bei Ratten mit Yoshida AH-130 Hepatom zu einer signifikanten Reduktion des Muskelverlustes [49]. Auch IL-1 verstärkt direkt den Abbau von Proteinen der Skelettmuskulatur [50]. Serum-Level an TNF- α , IL-1, IL-6 und IFN- γ von Patienten mit fortgeschrittener oder terminaler Tumorerkrankung konnten jedoch nicht mit dem Gewichtsverlust in Korrelation gesetzt werden [51]. Auch können erhöhte Konzentrationen zirkulierender Zytokine in Tumorpatienten nicht immer nachgewiesen werden [52]. Möglicherweise kommt in diesen Fällen der lokalen Produktion von Zytokinen eine größere Rolle zu als der systemischen Produktion. Ein Hinweis hierauf könnte sein, dass an isolierten peripheren mononukleären Zellen von Patienten mit Pankreas-tumor und Akute-Phase-Reaktion eine erhöhte Produktion von TNF- α und IL-6 gezeigt werden konnte [53]. An dem im vorliegenden Versuch verwendeten Modell der Tumorkachexie konnten jedoch hohe Plasma-Konzentrationen von TNF- α nachgewiesen werden [54]. Andere Autoren berichten von niedrigen Serum-Spiegeln, aber erhöhten lokalen Konzentrationen von TNF- α in Geweben wie Muskel, Leber, Milz und Gehirn [55]. Auch erhöhte Konzentrationen an Rezeptoren für TNF- α sind bei Ratten mit dem Yoshida AH-130 Hepatom nachgewiesen worden [55, 56].

Mit Kachexie einhergehende Änderungen der Hormonspiegel und der Sensitivität der Zielorgane sind bei Tieren und auch beim Menschen beschrieben worden, wobei das genaue Muster der Veränderung je nach Tumortyp variiert [57]. Erhöhte Spiegel von Glukagon und Kortisol wurden bei Tumorpatienten nachgewiesen [58,

59], und die Gabe dieser Stoffe kann beim Menschen Merkmale der Kachexie wie Proteinverlust, Akute-Phase-Reaktion, Glukose-Intoleranz oder Erhöhung des Energieumsatzes erzeugen [60, 61]. IL-1 β verringert die Expression von Ghrelin im Magen und von NPY im Hypothalamus [62]. TNF- α erhöht die Konzentration von Leptin, welches den Appetit unterdrückt und den Energieumsatz steigert [63]. Ebenfalls anorexigen wirkt Serotonin, das aus Tryptophan gebildet wird. Bei Patienten mit Tumor konnten erhöhte Tryptophan-Spiegel gemessen werden, dies korrelierte mit einer verringerten Nahrungsaufnahme [64]. Im Tierversuch zeigte sich der gleiche Effekt, zusätzlich wurde hier ein erhöhter oxidativer Stress in Gehirn und peripheren Geweben nachgewiesen [65-67]. Der Abbau von Tryptophan zu Kynurenin setzt reaktive Sauerstoffspezies (reactive oxygen species, ROS) frei und trägt so zu einem Anstieg des oxidativen Stresses bei [30].

Proteolysis-Inducing-Factor (PIF) wurde in Mäusen mit MAC16 Adenokarzinom nachgewiesen und bewirkt einen Gewichtsverlust, ohne jedoch eine Anorexie hervorzurufen [68]. Die Proteinsynthese wird gehemmt, während die Produktion einzelner Bestandteile des Ubiquitin-Proteasom-Systems zum Abbau von Proteinen gesteigert wird [69, 70]. Ist PIF in einer Konzentration vorhanden, die eine Steigerung der Proteasom-Expression induziert, so kann ein Rückgang des zellulären Myosin-Spiegels beobachtet werden [9]. PIF induziert eine durch Phospholipase A2 vermittelte Freisetzung von Arachidonsäure aus der Zellmembran, welche teilweise zu 15-Hydroxyeikosatetraensäure (15-HETE) umgesetzt wird. Diese scheint für die gesteigerte Produktion der Proteasomen verantwortlich zu sein [71]. Desweiteren veranlasst PIF über die Aktivierung der Transkriptionsfaktoren NF- κ B und STAT3 die Produktion von IL-6, IL-8 und CRP [36]. Beim Menschen konnte durch die Arbeitsgruppe um Tisdale PIF im Urin von 80% der Patienten mit Pankreastumor nachgewiesen werden. Diese zeigten einen schnelleren und stärkeren Gewichtsverlust als Patienten ohne Nachweis von PIF [72]. PIF wurde ebenfalls im Urin von Patienten mit Brust-, Ovar-, Lungen-, Kolon- oder Rektumtumoren, welche einen Gewichtsverlust von ≥ 1 kg pro Monat aufwiesen, dokumentiert [73]. Diese Ergebnisse und mögliche Rückschlüsse daraus werden allerdings in Frage gestellt durch eine Arbeit von Wieland et al. [74]. Diese konnten keine Korrelation zwischen dem Nachweis von PIF und dem Überleben oder dem Rückgang von Skelettmuskulatur bei Tumorpatienten aufzeigen. Sie wiesen vielmehr eine unspezifische Bindung von Albumin und Immunglobulinen an monoklonalen Anti-PIF-Antikörpern nach. An

rekombinatem humanen PIF konnte hier die für die Aktivität entscheidende Glykosilierungsstelle des murinen PIF nicht nachgewiesen werden [74]. Auch bei Patienten mit Herzinsuffizienz wurde in dieser Studie PIF nachgewiesen, sodass die Rolle von PIF beim Menschen noch nicht abschließend geklärt ist.

Lipid-Mobilising-Factor (LMF) konnte sowohl im Urin von Kachexie-Patienten wie auch bei Mäusen mit Adenokarzinom nachgewiesen werden [75]. LMF ist identisch mit Zink- α_2 -Glykoprotein (ZAG), welches beim Menschen in braunem und weißem Fett gebildet wird und dort über einen cAMP-abhängigen Signalweg den Abbau von Fettgewebe induziert [76]. Zu diesem Effekt kommt es infolge einer Interaktion mit dem β_3 -Adrenorezeptor [77]. Zusätzlich verstärkt es die Aktivität von Uncoupling-Proteinen im Fettgewebe [78]. ZAG zeigt sich bei Mäusen mit Tumorkachexie erhöht [79].

Veränderungen des Gesamtmetabolismus

Die metabolischen Veränderungen infolge der Tumorkachexie ähneln weitaus mehr den Änderungen bei Patienten mit schwerer Sepsis oder multiplem Trauma als den Folgen von Unterernährung [80]. Ursache dieser Veränderungen ist eine chronische Entzündungsreaktion des den Tumor beherbergenden Körpers. Sie werden daher auch in dem Begriff des „Cancer Inflammation-Hypercatabolism Syndrome“ (Entzündungs- und Hyperkatabolismus-Syndrom bei Krebserkrankungen) zusammengefasst [2].

Patienten mit den häufig mit Kachexie assoziierten Pankreas- oder Lungentumoren zeigen eine Tendenz zu erhöhtem Energieumsatz im Ruhezustand (resting energy expenditure, REE), während bei Patienten mit kolorektalem Tumor die REE nicht erhöht ist [53, 81]. Da normalerweise eine sinkende Nahrungsaufnahme mit vermindertem Energieumsatz einhergeht, ist angesichts progressiver Anorexie aber bereits ein stagnierender Energieumsatz als unnormales anzusehen [19]. In Langzeit-Untersuchungen an der Ratte konnte auch ein Wechsel von initialem Hypermetabolismus über Normalwerte hin zu einem präterminalen Hypometabolismus nachgewiesen werden. Möglicherweise ist dies für die beobachtete Heterogenität der Studien-Ergebnisse beim Menschen mitverantwortlich [82].

Ein Mechanismus, der für die Erhöhung des Ruheumsatzes mitverantwortlich sein könnte, ist die vermehrte Expression von Uncoupling Protein (UCP)-1, UCP-2 und UCP-3. Diese Proteine befinden sich in der inneren Mitochondrienmembran und

entkoppeln die oxidative Phosphorylierung zugunsten verstärkter Thermogenese [83]. Der Protonentransport durch die Membran ist somit nicht mehr mit dem Aufbau von ATP verbunden und Energie geht verloren [19]. UCP-1 befindet sich ausschließlich im braunen Fettgewebe, welches bei gesunden Erwachsenen kaum vorkommt. Allerdings kann es bei 80% der Patienten mit Kachexie nachgewiesen werden, verglichen mit 13% der Kontrollgruppe [84]. Bei Mäusen mit MAC16 Kolon-Adenokarzinom und Gewichtsverlust zeigten sich erhöhte mRNA-Level für UCP-1 im braunen Fettgewebe sowie für UCP-2 und UCP-3 in der Skelettmuskulatur [85]. Transgene Mäuse, die UCP-3 überexprimieren, weisen eine verringerte Menge an weißem Fett und ein niedrigeres Gesamtgewicht auf als Tiere des Wildtyps [86]. Ratten mit Yoshida AH-130 Aszites Hepatom, welches eine Kachexie induziert, hatten zweifach erhöhte mRNA-Level für UCP-2 und drei- bis vierfach erhöhte mRNA-Werte für UCP-3 in den Mm. soleus und gastrocnemius [87]. Auch beim Menschen konnte eine fünffach erhöhte Konzentration an UCP-3-mRNA bei Patienten mit Adenokarzinom des Gastrointestinaltraktes und mit Gewichtsverlust im Vergleich zu gewichtstabilen Tumorpatienten oder Gesunden nachgewiesen werden [88]. Möglicherweise werden diese Veränderungen durch LMF oder TNF- α hervorgerufen. Im Adenokarzinom-Modell der Maus erhöhte LMF sowohl mRNA- als auch Protein-Level an UCP-1, -2 und -3 im braunen Fett sowie an UCP-2 in Skelettmuskel und Leber [89]. Bei der Ratte rief eine intravenöse Gabe von TNF- α eine signifikante Erhöhung von UCP-2 und -3 im Skelettmuskel hervor [90].

Patienten mit Tumorkachexie zeigen regelmäßig eine relative Glukose-Intoleranz sowie Insulin-Resistenz mit erhöhter Glukose-Produktion und verstärkter Rückgewinnung aus Laktat über den Cori-Zyklus [91]. Da hierfür Energie benötigt wird, könnte dies zur Erhöhung der REE beitragen. Viele Tumore scheinen ihren Energiebedarf aus dem anaeroben Glukoseabbau zu gewinnen. Der Energiebedarf für den infolgedessen erhöhten Glukoseumsatz trägt mit bis zu 15% zum totalen Energieverbrauch bei [91, 92]. Auch für die gesteigerte Proteolyse, namentlich das Ubiquitin-Proteasom-System, wird Energie benötigt [19].

Durch die Entzündungsreaktion wird auch der Proteinstoffwechsel der Leber umgestellt. Akute-Phase-Proteine (APP) wie CRP, Serum-Amyloid A, β_2 -Makroglobulin und α_1 -Antitrypsin [19] sind erhöht, während der Albumin-Spiegel im Blut abnimmt oder unverändert ist [93]. Vermutlich trägt der gesteigerte Bedarf an Aminosäuren für die APP zum Abbau der Skelettmuskulatur bei [33]. Die Akute-

Phase-Reaktion (APR) wird von Zytokinen aktiviert und moduliert. Eine signifikante positive Korrelation zwischen dem Ausmaß der APR und den Serumspiegeln von IL-6 und bestimmten TNF-Rezeptoren konnte nachgewiesen werden [94]. Auch CNTF aus der IL-6 Superfamilie bewirkte in der Maus eine APR, sowie Anorexie und einen Verlust an fettfreier Masse [19]. PIF wiederum erhöht sowohl die Produktion von IL-6 als auch von CRP [36]. Erhöhte APP-Level gehen einher mit einer verkürzten Überlebenszeit [95].

Die Mobilisierung freier Fettsäuren aus dem Fettgewebe ist möglicherweise auch auf eine verstärkte β -adrenerge Rezeptor-Aktivität zurückzuführen. Orale Gabe sowohl eines spezifischen β_1 -Rezeptorblockers als auch eines unspezifischen $\beta_1\beta_2$ -Rezeptorblockers bewirkten eine signifikante Senkung des Energieumsatzes in Ruhe [96].

Veränderungen des Proteinstoffwechsels

Anders als bei Unterernährung sind in der Kachexie die viszerale Proteinreserven nicht oder kaum betroffen, der Verlust an fettfreier Masse ist hier auf den Abbau der Skelettmuskulatur zurückzuführen. Bei einem Gewichtsverlust von 30% kann die Skelettmuskelmasse um bis zu 75% geschrumpft sein [19]. Auch kardiale Proteine sind betroffen, was Veränderungen der Herzleistung mit sich bringt [97]. Bei Tumorpatienten mit Gewichtsverlust ging der Anteil der Muskelproteinsynthese an der gesamten Proteinsynthese auf 8% zurück, während er bei der gesunden Kontrollgruppe 53% betrug [98]. Der generelle Rückgang des Gesamtproteins wird hauptsächlich durch einen verstärkten Proteinabbau hervorgerufen. Die Beteiligung eines Rückgangs der Proteinsynthese ist strittig [19, 99]. So vorhanden, ist dieser durch einen generellen Mangel an Aminosäuren bedingt, welche verstoffwechselt und für Glukoneogenese sowie APP-Synthese verbraucht werden [8]. Aber auch die entstehende Imbalance des Aminosäure-Pools spielt hier eine Rolle. Tumortragende Tiere zeigen eine erhöhte Oxidation von Leucin [19] oder anderer verzweigtkettiger Aminosäuren. Diese regen Signaltransduktionswege an, welche die Initiierung der Translation modulieren [100] und somit eine Steigerung der Proteinsynthese in der Skelettmuskulatur bewirken [101].

Der intrazelluläre Abbau von Protein kann über drei Stoffwechselwege erfolgen: Ca^{2+} -abhängig, lysosomal oder proteosomal. Die Kalzium-abhängige Proteolyse findet in einer relativ frühen Phase der experimentellen Tumorkachexie statt und

setzt Aktin und Myosin frei [102, 103]. Auch der lysosomale Proteinabbau scheint eher im Anfangsstadium der Kachexie stattzufinden. Eine verstärkte Expression von Kathepsin B, einer lysosomalen Protease, konnte bei Lungentumor-Patienten mit beginnendem Gewichtsverlust beobachtet werden [104]. Möglicherweise wird dieser Schritt durch IL-6 vermittelt, da bei Gabe von anti-IL-6-Rezeptor-Antikörpern eine verminderte enzymatische Aktivität der Kathepsine B und L nachgewiesen werden konnte [105]. Ca^{2+} -abhängige und lysosomale Proteasen sind zusammen jedoch nur für etwa 15-20% des gesamten Proteinabbaus verantwortlich, und den weitaus größten Anteil macht der Weg über das Ubiquitin-Proteasom-System aus [19]. Hierbei wird eine Polyubiquitin-Kette an das zu degradierende Protein gebunden, welches sodann durch das 26S-Proteasom erkannt und abgebaut wird. Dies erfolgt ATP-abhängig [106]. Limitierender Schritt ist die Polyubiquitinierung, freie Ubiquitin-Moleküle werden durch Ubiquitin-Ligasen wieder zur Verfügung gestellt. Es konnte gezeigt werden, dass die Mengen zweier solcher E3-Ligasen, kodiert durch die Gene muscle RING finger 1 (MuRF1) und muscle atrophy box (MAFbx) [107], ebenso wie die weiteren E3-Ligasen wie E3 α -II [108] bei gesteigertem Proteinabbau und kachektischem Zustand erhöht sind. Verstärkte Expression von MuRF1 wurde auf Aktivierung von NF κ B zurückgeführt [109]. Dieser Transkriptionsfaktor befindet sich im Zytoplasma, gebunden an seinen Inhibitor I κ B. Infolge bestimmter Stimuli wie TNF- α , IL-1 β oder PIF wird NF κ B durch den I κ B-Kinase-Komplex (IKK) freigesetzt und wandert in den Zellkern. Dort reguliert es die Expression bestimmter Gene, möglicherweise auch der für die E3-Ligasen kodierenden Gene [110, 111]. Bei Ratten mit Yoshida AH-130 Hepatom zeigte sich eine signifikante Erhöhung an MuRF1 jedoch auch ohne Nachweis einer Aktivierung von NF κ B [106].

Mäuse mit MAFbx-Defekt zeigten sich resistent gegenüber Atrophie [107]. MAFbx vermittelt auch den Abbau des durch das Gen myogenic differentiation 1 kodierten Transkriptionsfaktors MyoD, welcher Wachstum und Differenzierung der Muskelzellen kontrolliert [112]. MyoD kann auch durch pro-inflammatorische Zytokine wie TNF- α oder IFN- γ gehemmt werden [35]. Dies könnte auf einer NF κ B-vermittelten Aktivierung von inducible nitric oxide synthase (iNOS) beruhen. Das entstehende NO würde hier mit dem Superoxid-Radikal (O_2^-) zu Peroxynitrit (ONOO^-) reagieren, welches einen Rückgang an MyoD-mRNA herbeiführen kann [113]. Experimentell konnte gezeigt werden, dass MyoD in einem Modell der Tumorkachexie herabreguliert ist [114].

1 Literaturübersicht

Die Expression von Ubiquitin wird bei Gabe von PIF, TNF- α , IFN- γ und IL-1 gesteigert [46]. PIF erhöht ferner die Level an integralen Bestandteilen des Proteasoms [69], während TNF- α auch die Konjugation von Ubiquitin und Muskelproteinen stimuliert [115]. Die proteolytische Wirkung von PIF und TNF- α scheint über eine vermehrte Bindung von NF κ B im Zellkern vermittelt zu werden [47, 116]. Inhibitoren von NF κ B können die Proteasom-Expression, den Proteinverlust und den Gewichtsverlust abschwächen, Aktivierung von NF κ B resultiert bei der Maus in starkem Muskelschwund [109, 117]. Der Transkriptionsfaktor AP-1 wurde mit einem Verlust an Muskelmasse bei Sepsis in Verbindung gebracht [118], und die Bindungsaktivität von AP-1 zeigte sich auch bei tumortragenden Tieren signifikant erhöht [42]. Hemmung von AP-1 bewirkte bei Ratten mit Yoshida AH-130 Hepatom eine Reduzierung des tumor-assoziierten Proteinabbaus im Skelettmuskel [42], auch konnte in diesem Zusammenhang eine verstärkte Expression des MyoD-Gens beobachtet werden [119].

Möglicherweise spielt auch Myostatin eine Rolle bei dem zunehmenden Verlust an Muskelprotein während einer Kachexie. Myostatin hemmt das Muskelwachstum und die Differenzierung der Myoblasten [120, 121], Funktionsverlust durch Mutation des entsprechenden Gens bei manchen Rinderrassen führt zum Phänotyp der „doppelten Bemuskelung“ [122]. Die Wirkung von Myostatin scheint unabhängig von NF κ B zu erfolgen, vielmehr erhöht es den Spiegel des Transkriptionsfaktors FoxO-1 [123]. Dies geht mit einer Heraufregulierung von MAFbx und MuRF1 sowie erhöhter Proteasom-Aktivität einher, die Expression von MyoD zeigt sich verringert [110, 123]. Beim Menschen konnte eine erhöhte Expression des für Myostatin kodierenden Gens bei Patienten mit AIDS-bedingter chronischer Atrophie beobachtet werden [110, 123]. Auch bei kachektischen Mäusen mit MAC26 Kolon-Adenokarzinom konnten 2- bis 3-fach erhöhte Werte für Myostatin-RNA gemessen werden [110].

Die Aktivität von MuRF1 und MAFbx scheint auch einer Regulation durch Proteine des Dystrophin-Glykoprotein-Komplexes (DGC) zu unterliegen [110]. Bei Tumorkachexie zeigten sich Schäden an den Außenmembranen der Muskelfasern, auch Veränderungen der Proteine der Extrazellulärmatrix konnten beobachtet werden [124]. Mit solchen Membranveränderungen korrelieren eine Reduktion an Dystrophin sowie posttranslationale Modifikationen anderer Proteine des DGC. Dies geht einher mit der Induktion von MuRF1 und MAFbx. Wiederherstellung des DGC

bei transgenen tumortragenden Mäusen genügte, um die Expression dieser E3-Ligasen zu reduzieren [110]. Veränderungen des DGC bei Patienten mit gastrointestinalen Tumorerkrankungen korrelierten positiv mit dem Auftreten einer Kachexie und negativ mit dem Überleben der Patienten [110].

Oxidativer Stress konnte mit Muskelverlust bei Tumorerkrankung in Verbindung gebracht werden [125]. Vermutlich können oxidierte Proteine leichter durch Proteolyse abgebaut werden [126, 127]. Setzte man murine C₂C₁₂-Myoblasten H₂O₂ aus, so zeigten sich vielfältige Faktoren des Ubiquitin-Proteasom-Systems herauf reguliert [107, 128]. Auch im in-vivo-Modell der Tumorkachexie wurden erhöhte Spiegel an reaktiven Sauerstoffspezies gefunden, ebenso wie eine Einschränkung der Fähigkeit, verstärkt antioxidative Enzyme zu exprimieren [129]. Patienten mit Lungen- und Blasen Tumoren zeigten eine signifikant erhöhte Aktivität des Enzyms Xanthinoxidase [130, 131], dies geht mit der Produktion reaktiver Sauerstoffspezies einher. Bei Ratten mit Yoshida AH-130 Hepatom wurde eine signifikante Zunahme der ROS nachgewiesen, was durch Gabe eines Antioxidans gemildert werden konnte. Ein schützender Effekt zeigte sich hier auch in Bezug auf den Abbau von Protein [106]. Ferner induziert TNF- α die Bildung von ROS, welche Zellschädigungen durch Oxidation von Nukleinsäuren, Proteinen und Membranlipiden vermitteln [132, 133]. Diese Studien legen nahe, dass oxidativer Stress als einer der Mechanismen angesehen werden kann, die an der Pathogenese des Muskelverlusts beteiligt sind [106]. Ebenso scheint nitrosativer Stress durch Bildung von NO eine Rolle zu spielen [129].

Die Tumorkachexie ist bei Patienten mit Tumoren des oberen Gastrointestinaltrakts auch von apoptotischen Veränderungen der Skelettmuskulatur begleitet [134]. Bei Ratten mit Yoshida AH-130 Hepatom und bei tumortragenden Mäusen ist die Abnahme des Proteingehalts von einem Rückgang des DNA-Gehalts der Muskulatur begleitet. DNA-Fragmentierung und verstärktes „laddering“ der DNA deuten auch hier auf ein apoptotisches Phänomen hin [97].

Veränderungen des Lipidstoffwechsels

Kachexie geht einher mit verminderter Lipogenese und verstärkter Lipolyse. Dies resultiert in einer Hyperlipidämie mit erhöhten Spiegeln an zirkulierenden freien Fettsäuren (free fatty acids, FFA) sowie Glycerin und schließlich einem Verlust von bis zu 85% des Fettgewebes [8, 135]. Verschiedene Studien deuten darauf hin,

dass weniger eine mangelnde Lipogenese für diesen Gewebsverlust verantwortlich ist als vielmehr die Verstärkung der Lipolyse. Hierfür könnte eine höhere Aktivität Hormon-sensitiver Lipase (HSL) verantwortlich sein, welche durch cAMP aktiviert wird und an der cAMP-abhängigen Lipolyse-Kaskade beteiligt ist [9]. Erhöhte mRNA-Werte von HSL konnten bei kachektischen Patienten nachgewiesen werden [136]. Eine verstärkte Aktivität der HSL wird durch Katecholamine hervorgerufen. Bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz wurde eine positive Korrelation zwischen erhöhten Plasmaspiegeln von Adrenalin und Noradrenalin und dem Auftreten einer Kachexie beschrieben [137]. Die lipolytischen Effekte von Katecholaminen wie auch von Natriuretischen Peptiden (ANP, BNP) sind bei Tumorpatienten mit Kachexie ausgeprägter als bei nicht-kachektischen [138]. Die Beteiligung einer reduzierten Aktivität von Lipoprotein-Lipase (LPL) ist strittig [136, 139]. Diese löst Fettsäuren aus zirkulierenden Lipoproteinen, welche sodann von den Adipozyten aufgenommen werden können und für die Lipogenese zur Verfügung stehen. LPL wird durch verschiedene Zytokine gehemmt [140].

LMF stimuliert die Adenylatzyklase und induziert direkt eine Lipolyse in den Adipozyten [141]. Dies wird durch einen β_3 -Adrenorezeptor vermittelt, welcher neben der Lipolyse im weißen Fettgewebe auch die Thermogenese im braunen Fett bewirkt [77].

1.2.3 Therapie der Tumorkachexie

Hauptziel einer möglichen Therapie der Tumorkachexie ist die Verhinderung, Abschwächung oder Reversion des Verlustes an fettfreier Masse.

Die Optimierung und Unterstützung der Ernährung bewirkt bestenfalls eine Stabilisierung des Gewichts [8, 142]. Stimulierung des Appetits mit verschiedenen Steroiden wie Prednisolon, Methylprednisolon und Dexamethason sowie mit Gestagenen wie Medroxyprogesteron und Megestrolazetat bewirkt kurzzeitige Verbesserungen von Appetit, Nahrungsaufnahme und Lebensqualität [33, 143]. Megestrolazetat scheint die metabolischen Wirkungen der wichtigsten katabolen Zytokine zu antagonisieren [144]. Wurde eine Gewichtszunahme beobachtet, so beruhte diese jedoch auf einer Steigerung der Fettmasse sowie einer verstärkten Retention von Wasser, während die fettfreie Masse unbeeinflusst blieb [24]. Auch das synthetische Steroid Danazol, in Kombination mit dem Antiestrogen Tamoxifen,

stabilisierte das Gewicht kachektischer Tumorpatienten [145]. Die positiven Effekte sind jedoch von schwerwiegenden Nebenwirkungen begleitet, sodass der Einsatz dieser Stoffe problematisch ist [8].

Dronabinol, ein appetitstimulierendes synthetisches Cannabinoid, zeigte eine signifikant geringere Wirksamkeit als Megestrolazetat [146]. Gabe des Serotonin-Antagonisten Cyproheptadin hatte keinen positiven Effekt auf das Gewicht kachektischer Tumorpatienten [147]. Anregung des Appetits mit Ghrelin jedoch zeigte bei der Ratte neben verstärkter Nahrungsaufnahme auch eine Erhaltung der fettfreien Masse [148]. Bei Menschen mit Tumorkachexie konnte die Gabe eines Ghrelin-Mimetikums das Körpergewicht erhöhen [149]. Gabe von mit Antioxidantien angereicherter Nahrung ab dem Zeitpunkt der Tumorkachexie milderte den Rückgang der Nahrungsaufnahme bei der Ratte [30]. Es scheint, dass eine Reduktion von oxidativem Stress nicht nur mit einer Verbesserung des Appetits, sondern auch mit einem positivem Einfluss auf Muskelmasse und -funktion verbunden ist [30].

Nach Gabe von Ibuprofen, einem nicht-steroidalen Antiphlogistikum, zeigten sich eine Verminderung des Ruheenergieumsatzes, der APR sowie der Spiegel von IL-6 und Kortisol [150-152]. Die Kombination von Megestrolazetat mit Ibuprofen bewirkte eine stärkere Gewichtszunahme als Gabe von Megestrolazetat allein. Inwiefern dies auf eine Zunahme an fettfreier Masse zurückzuführen war, wurde in der entsprechenden Studie nicht untersucht [153]. Eine Studie mit dem spezifischen Cyclooxygenase 2 (COX2)-Hemmer Meloxicam deutete darauf hin, dass dieser die Auswirkungen einer Kachexie abmildern kann, möglicherweise über eine Hemmung des Proteinabbaus im Skelettmuskel [154].

Die Reduzierung der Produktion von TNF- α mit dem Phosphodiesterasehemmer Pentoxifyllin resultierte im Rattenmodell der Tumorkachexie in einer Abschwächung des Proteinabbaus [49], beim Menschen konnte jedoch keine Reduktion des Gewichtsverlustes nachgewiesen werden [155]. Gabe von Thalidomid, welches neben einer Reihe weiterer Effekte eine Inhibition der Aktivität von NF- κ B bewirkt und so auch den Gehalt an TNF- α reduziert, verursachte eine signifikante Abschwächung von Gewichtsverlust und Verlust an fettfreier Masse [8, 156]. Nach Gabe von Melatonin zeigten sich in einer Studie an Tumorpatienten verminderte Serum-Spiegel an TNF- α sowie eine geringere Inzidenz von starkem Gewichtsverlust [157]. Verabreichung des anti-TNF- α -Antikörpers Infliximab konnte

1 Literaturübersicht

keine Verbesserung in Bezug auf fettfreie Masse und andere Symptome der Kachexie bei Patienten mit Pankreas-Tumor bewirken [158].

Eikosapentaensäure (EPA) reguliert proinflammatorische Zytokine und PIF herab und schwächt die APR ab [159, 160]. Nach Gabe von Fischöl, welches zu 18% EPA enthält, war der Serum-Spiegel von IL-6 reduziert, der Spiegel von Insulin erhöht und die Exkretion von PIF über den Urin reduziert [161]. Bei der Maus konnte EPA den PIF-bedingten Gewichtsverlust vollständig verhindern [162]. EPA hemmt die PIF-induzierte Freisetzung von Arachidonsäure aus der Zellmembran [71]. Studien an Tieren deuteten auf einen gewichtsstabilisierenden Effekt hin [163], was sich beim Menschen bestätigte. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass eine höhere Dosis einen Zuwachs an fettfreier Masse bewirken kann [142]. Die Kombination von EPA mit dem Leucin-Metaboliten β -Hydroxy- β -Methylbutyrat scheint die antikachektische Effektivität zu verstärken [164], die zusätzliche Gabe von Arginin und Glutamin erhöhte die Menge an fettfreier Masse [165]. Allerdings zeigen sich bei steigender Dosis deutliche Nebenwirkungen wie Übelkeit [166], welche die Compliance der humanen Patienten negativ beeinflussen.

Die Wirkung anabol wirkender Stoffe wurde ebenfalls untersucht. Durch Gabe von β -adrenergen Agonisten wie Clenbuterol, Formoterol und anderen konnte im Tumormodell Muskelmasse erhalten sowie die Proteinsynthese aktiviert werden [167, 168]. IL-4 und IL-15 können der Muskelatrophie tumortragender Ratten entgegenwirken [169, 170]. IL-12 vermindert den Gewichtsverlust bei Mäusen mit Kolon26 Adenokarzinom, wahrscheinlich durch Reduzierung der Konzentration von IL-6 [171]. Nach Gabe von IFN- γ verbesserte sich der Zustand kachektischer Mäuse mit malignem Mesotheliom, dies ging mit einem Rückgang sowohl der für IL-6 kodierenden mRNA als auch der Serumspiegel von IL-6 einher [172].

Bei tumortragenden Mäusen konnten für Erythropoetin (EPO) wie auch für Inhibitoren des Angiotensin-Converting-Enzyms (ACE-Hemmer) wie Imidapril positive Effekte nachgewiesen werden. EPO kann über eine Verminderung der Produktion von IL-6 die Kachexie-Symptomatik abschwächen [173]. Imidapril scheint den Gewichtsverlust infolge einer reduzierten TNF- α -Produktion vermindern zu können [174, 175].

Intratumorale Verabreichung von Oligonukleotiden, die die Bindung von NF- κ B an der DNA hemmen, schwächte bei Mäusen mit Kolon26 Adenokarzinom den Rückgang des Körpergewichts, des epididymalen Fettgewebes, der Masse des M.

gastrocnemius sowie der Nahrungsaufnahme ab und ging mit einer Abnahme der mRNA für IL-6 einher [176]. Das in der Chemotherapie genutzte 5-Fluoro-Uracil, metabolisiert aus 5'-Deoxy-5-Fluoro-Uridin, scheint auch eine antikachektische Wirkung zu besitzen und zeigt positive Effekte auf die hormonale Balance, die Leberfunktion einschließlich APR sowie den Blutglukose-Spiegel [177, 178].

β -Blocker reduzieren den Ruheenergieumsatz. Dieser ist bei Tumorpatienten infolge einer erhöhten Sensitivität und Aktivität der adrenergen β_1 - und β_2 - Rezeptoren erhöht [179]. Dies erklärt sich zum Teil aus einer Beeinträchtigung der Sauerstoffversorgung als Folge tumorbedingter Anämie oder einer Verringerung des Herzschlagvolumens [179, 180], welche zur Aktivierung des adrenergen Systems führt.

1.3 Allopurinol und Oxypurinol

1H-Pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ol oder Allopurinol senkt, wie auch sein aktiver Metabolit Oxypurinol, den Harnsäuregehalt des Blutes und wird daher auch als Urikostatikum bezeichnet. Ursprünglich wurde es bei der Suche nach neuen Antineoplastika Mitte der 1950er Jahre durch die Arbeitsgruppe der späteren Nobelpreisträger Hitchings und Elion entdeckt [181]. Es zeigte sich, dass durch Hemmung des Enzyms Xanthinoxidase (XO) auch die Harnsäure-Spiegel in Serum und Urin reduzieren werden konnten. Die US-amerikanische Food and Drug Administration erteilte 1966 die Zulassung für die Therapie von Gicht [182], an deren Pathogenese ein erhöhter Harnsäuregehalt des Blutes ursächlich beteiligt ist. Allopurinol wird in vivo sehr schnell durch die XO in Oxypurinol umgewandelt [182]. Mit Allopurinol behandelte Patienten scheiden 50-70% der Dosis in Form von Oxypurinol und weniger als 10% in Form von Allopurinol aus [183, 184]. Bei niedrigen Konzentrationen wirkt Allopurinol als Ersatzsubstrat und kompetitiver Inhibitor des Enzyms, bei höherer Konzentration als nicht-kompetitiver Inhibitor [182]. Der ebenfalls durch nicht-kompetitive Hemmung wirkende Metabolit Oxypurinol wird auch als pseudo-irreversibler Inhibitor der XO bezeichnet, da die scheinbar feste Bindung des Komplexes langsam wieder dissoziieren kann [185]. Allopurinol hat eine Halbwertszeit im Plasma von 2-3 Stunden, während Oxypurinol durch Rückabsorption in der Niere eine Halbwertszeit von 14-30 Stunden aufweist [186]. Häufigste Nebenwirkungen einer Gabe von Allopurinol sind Haut- und

Überempfindlichkeitsreaktionen sowie Beschwerden des Magen-Darm-Traktes [182]. Allopurinol hemmt den Abbau von in der Chemotherapie eingesetzten Purin-Analoga [181] und zeigt einen positiven Effekt beim Tumor-Lysis-Syndrom nach Chemotherapie.

XO und Xanthindehydrogenase (XDH) sind verschiedene Formen desselben Enzyms, der Xanthinoxidoreduktase (XOR). Dieses wird in der Dehydrogenase-Form synthetisiert, kann aber durch Proteolyse oder Oxidation der Sulfhydryl-Reste in die Oxidase-Form umgewandelt werden [182]. Das Enzym liegt als Homodimer vor, beide Monomere sind unabhängig voneinander katalytisch tätig. XOR ist im Plasma und ebenso in vielen Organen wie Leber, Lunge, Darm, Niere, Herz und Gehirn zu finden und katalysiert die Umwandlung von Hypoxanthin über Xanthin zu Harnsäure [182]. Dies ist eine Schlüssel-Reaktion des Abbaus von Purinbasen der Nucleinsäuren. Bei der katalytischen Tätigkeit der XO entstehen als Nebenprodukte die zu den reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) gehörenden Moleküle Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Superoxid-Radikal (O_2^-) [182]. Von einigen Tumoren ist bekannt, dass sie mit einer erhöhten Aktivität der XO einhergehen [130, 131]. Oxidativer Stress kann regelmäßig bei Tumorpatienten nachgewiesen werden [187] und scheint eine Rolle in der Karzinogenese zu spielen [188]. Durch eine ROS-bedingt erhöhte Mutationsrate können Proto-Onkogene aktiviert und die Replikation verstärkt werden [30]. Die antioxidative Reaktion des Körpers zeigt sich im Tier-versuch wie auch bei Tumorpatienten ineffizient und trägt so zum Anstieg des oxidativen Stresses bei [129, 189]. In einer Studie an Patienten mit Lungenkrebs zeigte sich neben den Parametern für oxidativen Stress jedoch auch die antioxidative Reaktion des Körpers generell erhöht. Bei zusätzlichem Auftreten einer Kachexie wurden signifikant höhere Werte an ROS, aber auch der Antioxidantien Glutathion und Vitamin E nachgewiesen [190].

ROS verursachen auch Zellschädigungen [126, 127] und verstärken im Rattenmodell der Tumorkachexie die Proteolyse [106]. In der Zellkultur zeigen sich dementsprechend Schädigungen der DNA und zytotoxische Effekte als Folge der Aktivität der XO [191]. Das Ausmaß dieser Schäden war proportional zur Konzentration an XO und zur Dauer der Exposition. Die Bildung von Einzelstrang-Brüchen der DNA konnte nach Gabe von Allopurinol ebenso wie bei Fehlen von Xanthin nicht nachgewiesen werden. Gabe von Superoxiddismutase und Katalase verhinderten

die DNA-Schädigung ebenfalls. Dies deutet auf eine Beteiligung von O_2^- und H_2O_2 hin [191]. An einer Gliomzell-Linie konnte experimentell gezeigt werden, dass die Regulation des Hypoxia-Inducible-Factor 1 α (HIF1- α) vermutlich von XO-abhängiger Erhöhung an ROS vermittelt wird. HIF1- α induziert Angiogenese, Erythropoese und Glykolyse [192] und begünstigt somit das Zellwachstum dieser soliden Tumore.

Diskutiert wird eine Funktion der ROS als proinflammatorische Mediatoren, da sie im Rattenmodell während einer Ischämie der Leber NF κ B aktivieren. Dies wird durch Gabe von Allopurinol verhindert [193]. Der Grad der Aktivierung von NF κ B ist hierbei relevant für das Ausmaß der Leberschädigung [194]. Produktion von ROS durch Strahlung oder Ischämie mit nachfolgender Reperfusion induziert entzündliche Reaktionen, welche wiederum eine sekundäre Vervielfachung der ROS-Produktion bewirken [195]. Granulozyten sezernieren auch reaktive Sauerstoffspezies im Rahmen der Immunabwehr (oxidative burst).

Der Hauptabbauweg von Tryptophan zu Kynurenin ist verbunden mit der Freisetzung von ROS. Plasma- und Gehirnkonzentrationen von Tryptophan, dem Vorläufer des anorexigen wirkenden Neurotransmitters Serotonin, sind bei Tumorpatienten erhöht [30, 64]. Auch der H_2O_2 -Gehalt des Hypothalamus tumortragender Ratten ist erhöht, dies könnte durch Imitation eines erhöhten Insulin-Gehalts eine Abnahme der Nahrungsaufnahme bewirken und so zum Symptom der Anorexie beitragen [196].

Allopurinol und Oxypurinol bewirkten in vielen Studien Milderungen der Gewebeschäden nach Ischämie und folgender Reperfusion. Auch bei toxisch bedingten Organschäden und entzündlichen Erkrankungen scheint häufig eine Beteiligung von XO vorzuliegen und ist daher eine Gabe von Allopurinol vorteilhaft [182]. Diese Effekte sind vermutlich nicht ausschließlich auf die Hemmung der XO zurückzuführen, sondern beruhen zum Teil auch auf weiteren, unspezifischen Effekten. So werden Allopurinol und Oxypurinol direkte Funktionen als Radikalfänger zugeschrieben [197]. In einer Studie zum oxidativen Stress muriner hepatischer Mitochondrien nach Paracetamol-Gabe zeigte sich, dass Allopurinol in einer für die XO-Hemmung ausreichenden Dosis (10mg/kg) keine schützende Wirkung entfalten konnte. Erst bei Erhöhung der Dosis auf ein die antioxidative Wirkung stärker betonendes Maß (100mg/kg) zeigte sich ein protektiver Effekt [198]. Dieses Wirkschema zeigte sich auch nach Gabe von Allopurinol bei Uveitis [199].

1 Literaturübersicht

Die Umwandlung von Allopurinol in seinen Metaboliten Oxypurinol produziert die gleiche Menge an Superoxid-Radikalen wie die Umwandlung von Xanthin in Harnsäure. Da aber Oxypurinol die weitere Aktivität der XO verhindert, wird die Entstehung von O_2^- frühzeitig verlangsamt [185].

Die infolge der XO-Aktivität entstehende Harnsäure ist ein Radikalfänger und wurde in einem Modell der Multiplen Sklerose zum Schutz vor durch oxidativen Stress bedingten neuronalen Schäden eingesetzt. Auch weisen Patienten mit Gicht und dementsprechend hohem Harnsäuregehalt des Blutes eine geringere Wahrscheinlichkeit auf, Multiple Sklerose zu entwickeln [200]. Harnsäure kann XO über negatives Feedback inhibieren. Die Reduktion der Harnsäurebildung infolge einer Hemmung der XO durch Allopurinol könnte also paradoxerweise einen gegenteiligen Effekt bewirken. Die Produktion von Harnsäure geht allerdings auch mit der Entstehung von Superoxid-Radikalen einher [201]. Im durch Ischämie und Reperfusion geschädigten Skelettmuskel von Mensch und Schwein konnte keine schützende Wirkung von Allopurinol oder Oxypurinol nachgewiesen werden [202]. Insgesamt kann jedoch davon ausgegangen werden, dass eine Hemmung der XO durch die verminderte Bildung von ROS meist von Vorteil ist [182].

Aus beschädigten Zellen freigesetzte Harnsäure fungiert als endogenes Alarmsignal und stimuliert die Reifung dendritischer Zellen. Gemeinsame Gabe von Harnsäure und Antigen bewirkte in vivo eine verbesserte Immunreaktion, namentlich der CD8+ T-Zellen [203].

Zirkulierende XO kann als Marker für Leberschäden angesehen werden und bewirkt auch Schädigungen entfernter Organe. Dies scheint durch die Bindung an Glykosaminoglykanen der Endothelzellen und die darauf folgende Dysfunktion des Endothels vermittelt zu werden [182, 204]. Die Verbesserung der Endothelfunktion durch Allopurinol bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz ist auf eine Verringerung des oxidativen Stresses am Endothel zurückzuführen [205, 206].

Chronische Herzinsuffizienz (CHI) kann auch mit Hyperurikämie verbunden sein. Erhöhte Harnsäure-Werte können hier als negative prognostische Marker angesehen werden [207], und kachektische CHI-Patienten weisen die höchsten Harnsäure-Werte auf [208]. Es besteht eine starke Korrelation zwischen Harnsäure und Schwere der chronischen Entzündung, gemessen am Plasmaspiegel von TNF- α und weiteren Entzündungsparametern [209]. Auch die ROS-Spiegel sind erhöht, und im Mausmodell der Herzinsuffizienz konnte eine Steigerung der myokardialen

XO-Aktivität um den Faktor 3 [210], bei der Ratte um den Faktor 10 [211, 212] nachgewiesen werden. Chronische Gabe von Allopurinol bewirkte neben der Hemmung der XO auch eine verminderte Oxidation myofibrillärer Proteine sowie positive Effekte bezüglich weiterer Parameter wie Ventrikeldilatation oder Erhaltung der Kontraktionskraft des Herzmuskels [210]. Auch in weiteren Studien zur Herzinsuffizienz verbesserte Allopurinol verschiedenste herzspezifische Parameter und begünstigte die Überlebensrate [182, 211, 213]. Für Oxypurinol konnte im Rattenmodell der Herzinsuffizienz eine positiv inotrope Wirkung nachgewiesen werden [214]. Möglicherweise sind diese Effekte zum Teil auf eine Ca^{2+} -sensibilisierende Wirkung von sowohl Allopurinol als auch Oxypurinol zurückzuführen [215]. Nichtsdestotrotz wird deren Gabe bei Herzinsuffizienz von manchen Autoren aufgrund einer fehlenden Verbesserung der klinischen Situation in zwei Studien als nicht gerechtfertigt angesehen [216].

Allopurinol beeinflusst auch die Permeabilität der Darmwand nach Ischämie und Reperfusion positiv [217]. Die Translokation von Bakterien durch die Darmwand könnte über die Freisetzung von Endotoxin eine ausgeprägte Entzündungsreaktion hervorrufen. Eine solche Translokation scheint von ROS vermittelt zu werden, die durch die Aktivierung der XO gebildet werden. Gabe von Allopurinol reduzierte die bakterielle Translokation (BT) im Rattenmodell der Ischämie des Darmes deutlich (BT bei 14% der Versuchstiere gegenüber 61% ohne Allopurinol; 7% bei Sham-Operation ohne Ischämie) [218].

Bei Patienten mit Typ I - Diabetes zeigten sich die XO-Spiegel von Plasma und Leber ebenso erhöht wie bei Ratten mit Diabetes [219]. Auch bei diabetischen Mäusen war der Plasma-Spiegel an XO erhöht und korrelierte mit der Bildung von Superoxid-Radikalen 2 Wochen nach Beginn der Erkrankung. Dies könnte an der Pathogenese vaskulärer Komplikationen bei Diabetes beteiligt sein. Durch Vorbehandlung mit Allopurinol oder Oxypurinol konnte der XO-Spiegel normalisiert werden [220].

Allopurinol hat einen hemmenden Einfluss auf die Purin-Synthese und, hiermit korrelierend, auf das Wachstum von Hepatomzellen (HTC) der Ratte [221]. Infolge einer XO-Hemmung ist der Purin-Abbau herabreguliert, dies könnte über einen negativen Feedback-Mechanismus die Purin-Neusynthese unterbinden. Vermutlich werden auch einige der an der de-novo-Synthese von Purinen beteiligten Enzyme durch das Allopurinol-Ribonukleotid allosterisch gehemmt [221].

1.4 Bisoprolol

1-[4-[2-(1-methylethoxy)ethoxymethyl]phenoxy]-3-(1methyl-ethylamino)-propan-2-ol oder Bisoprolol ist ein Hemmstoff der β -Rezeptoren des sympathischen Anteils des autonomen Nervensystems. Es wird daher der Gruppe der β -Adrenolytika zugeordnet. Diese unterscheiden sich aufgrund ihrer Selektivität für die Subtypen der Rezeptoren.

Das adrenerge System wird neben α_1 - und α_2 -Rezeptoren auch über mehrere Klassen von β -Rezeptoren vermittelt. Diese Adrenozeptoren unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Verteilung in den einzelnen Geweben, der vermittelten Zellantwort sowie der Spezifität für die einzelnen Liganden. β_1 -Rezeptoren finden sich hauptsächlich am Herzen, aber auch im Fettgewebe und am juxtaglomerulären Apparat der Niere [222]. Sie vermitteln am Herzen eine Erhöhung der Kontraktilität und der Schlagfrequenz, sind also positiv inotrop, chronotrop und auch dromotrop wirksam. β_2 -Rezeptoren sind in der glatten Muskulatur der Gefäße, der Bronchien, von Uterus und Harnblase, am Herzen sowie in Leber, Pankreas und Schweißdrüsen lokalisiert [222]. Dominierende Effekte sind Vasodilatation und Bronchodilatation. Das Verhältnis der β_1 - zu β_2 -Rezeptoren am Herz beträgt 75:25. β_3 -Rezeptoren befinden sich im weißen und braunen Fettgewebe sowie in der Skelettmuskulatur [223, 224]. Sie bewirken eine Lipolyse und Erhöhung des Energieumsatzes [225].

Physiologische Agonisten aller Adrenozeptoren sind die sympathomimetisch wirksamen Katecholamine Noradrenalin und Adrenalin. Die adrenerge Wirkung wird über G_s -Proteine vermittelt, welche durch eine Aktivierung der Adenylatzyklase die intrazelluläre Konzentration an cAMP erhöhen [222]. Über den Normalwert erhöhte Plasmaspiegel von Noradrenalin zeigen sich bei Patienten mit Kachexie, unabhängig von der Ätiologie. Bei Patienten ohne Kachexie, bei unterernährten Patienten oder gesunden Kontrollpersonen konnte dies nicht nachgewiesen werden. Aktivierung des Sympathikus könnte daher ein wichtiger Faktor der Entstehung von Kachexie bei verschiedenen chronischen Erkrankungen sein [226, 227]. Möglicher Wirkmechanismus könnte hier eine Erhöhung der REE sein [227]. Physiologische Antworten auf eine verlängerte Einwirkung von Katecholaminen sind die Herunterregulierung der β_1 -Rezeptoren und eine Verringerung der Sensitivität der β_2 -Rezeptoren [228, 229]. Demgegenüber zeigte sich bei tumortragenden Tieren

ebenso wie bei humanen Tumorpatienten neben einer erhöhten adrenergen Aktivität auch eine erhöhte Sensitivität [179].

Die β -Adrenolytika werden in 3 Gruppen unterteilt. Alle wirken als kompetitive Hemmstoffe. β -Blocker der ersten Generation sind unspezifische Inhibitoren der β -Rezeptoren, die der zweiten Generation weisen eine höhere Affinität zu β_1 -Rezeptoren auf [230]. Eine spezifische Hemmung ist jedoch nur dosisabhängig zu verzeichnen. Mit steigender Konzentration vermögen spezifische β_1 -Blocker auch andere β -Rezeptoren zunehmend zu blockieren [231]. β -Blocker der dritten Generation können neben einer unspezifischen β -Blockade auch α -Rezeptoren hemmen [232]. Einige β -Blocker verfügen über eine sogenannte intrinsische sympathomimetische Aktivität (ISA), können also in geringem Maße als Agonisten am Rezeptor wirken. Ferner können β -Rezeptoren auch ohne gebundenen Agonisten eine intrinsische Aktivität aufweisen. Hierbei können β -Blocker als inverse Agonisten den aktiven Rezeptor inaktivieren [224].

Bisoprolol ist ein hochspezifischer β_1 -Antagonist ohne ISA. Die Affinität zum β_1 -Rezeptor ist etwa um den Faktor 120 höher als die zum β_2 -Rezeptor. α -Rezeptoren werden nicht beeinflusst. Die Wirksamkeit im Vergleich zu Propranolol ist um den Faktor 10 erhöht [224]. Die Absorption im Gastrointestinaltrakt erfolgt schnell und zu über 90%, die Bioverfügbarkeit beträgt etwa 80%. Die Elimination von Bisoprolol erfolgt zu gleichen Teilen über renale und hepatische Mechanismen, die Halbwertszeit beträgt 9-12 Stunden [224]. β_1 -Blocker erniedrigen den Blutdruck durch Verringerung der kardialen Auswurfleistung, möglicherweise auch über die Regulation der Renin-Freisetzung. Bei jungen Patienten mit Bluthochdruck können sie die Hypertrophie des linken Ventrikels umkehren [233]. Indikation zur Gabe von Bisoprolol ist neben Hypertonie auch eine symptomatische Herzinsuffizienz [234].

Unabhängig von Ätiologie und Schweregrad der Herzinsuffizienz bewirkte Bisoprolol im Rahmen der CIBIS-Studien (Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study) eine signifikante Verbesserung bezüglich der Mortalität der Studien-Teilnehmer. Die Gesamtmortalität verglichen mit Placebo war um 32% verringert, die des akuten Herztods um 43% [224, 235]. Es scheint, dass die Gabe von Bisoprolol zusätzlich zur Therapie mit ACE-Hemmern die Entstehung eines Gewichtsverlusts bei chronischer Herzinsuffizienz (CHI) teilweise verhindern oder verlangsamen kann [226]. In einer Studie mit Carvedilol, Bisoprolol und Metoprolol wurde der Behandlung herzinsuffizienter Patienten mit β -Blockern ein positiver Einfluss auf relativen und totalen

Gehalt an Körperfett zugeschrieben. Während Carvedilol die Substratbereitstellung zur Energiegewinnung teilweise vom Fett- auf den Glukosestoffwechsel umstellen konnte, wurde dieser Effekt bei Bisoprolol nicht nachgewiesen [236]. Hochselektive β_1 -Antagonisten wie Bisoprolol sind nahezu frei von Einfluss auf solche Stoffwechselwege [233].

Sympathomimetika können an Herz und Skelettmuskulatur myotoxisch wirken. Am Myokard wird dieser Effekt hauptsächlich über β_1 -Rezeptoren vermittelt, an der Skelettmuskulatur über β_2 -Rezeptoren. In einer Studie mit Ratten, denen das β -Sympathomimetikum Isoprenalin verabreicht wurde, zeigte sich ein uneinheitlich über das Herz verteilter Untergang von Kardiomyozyten. Am stärksten war dieser am linken Ventrikel, verursacht zum größeren Teil durch Nekrose, während Apoptose weniger häufig auftrat [237, 238]. Die Gabe von β -Blockern könnte solche myotoxischen Effekte möglicherweise abmildern.

Gabe eines unspezifischen β -Blockers nach Verbrennungen konnte den Hypermetabolismus und überschießenden Protein-Katabolismus der Skelettmuskulatur umkehren [239]. Bisoprolol in hoher, also auch β_2 -Rezeptoren blockierender Dosierung konnte ex vivo die durch Noradrenalin und Isoprenalin induzierbare Produktion von TNF- α im Blut von CHI-Patienten antagonisieren [229].

Eine Studie an kachektischen Mäusen deutet darauf hin, dass Noradrenalin auch die Thermogenese im braunen Fettgewebe erhöht [240]. Der Verlust an Körperfett durch LMF scheint ebenso wie die Regulation der UCP1- und UCP2-Expression über Interaktion mit dem β_3 -Rezeptor vermittelt zu werden [241]. Blockade dieser Rezeptoren und Unterdrückung einer sympathischen Aktivierung könnte diese die Entstehung einer Kachexie begünstigenden Effekte verhindern.

2 Material und Methoden

Die vorliegende Studie war Teil einer größeren Versuchsreihe, sodass die Werte für Placebo sowie Bisoprolol (Monotherapie) auch von anderen Mitarbeitern der AG Anker (CCR, Charité, Berlin) genutzt und veröffentlicht werden.

2.1 Tiere und Tierhaltung

2.1.1 Tiere

Für die Untersuchungen wurden männliche Wistar-Ratten im Alter von circa 7 Wochen und mit einem Gewicht von etwa 200 Gramm von der Firma Charles River, Sulzfeld, bezogen.

2.1.2 Haltung

Die Tierhaltung befand sich in einem klimatisierten SPF-Stall des Center for Cardiovascular Research der Charité Universitätsmedizin Berlin. Die Tiere wurden für die Dauer des Versuches in Makrolon-Standardkäfigen Typ IV gehalten. Diese waren mit Sägespäne-Einstreu sowie je einer Kunststoffröhre zur Anreicherung der Umwelt ausgestattet. Trinkwasser aus einer Nippelflasche wurde ad libitum angeboten. In einer Futterraufe wurde Futter der Marke „ssniff R/M-H“ der Firma ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, ebenfalls ad libitum angeboten. Der Tag-Nacht-Rhythmus betrug je 12 Stunden (7-19 Uhr), die Temperatur 22° Celsius.

Die Käfige wurden zweimal wöchentlich gewechselt. Der Gesundheitszustand der Tiere wurde zweimal täglich von Tierärzten überprüft. Die Experimente wurden nach Genehmigung durch das Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit gemäß den Tierschutzrichtlinien durchgeführt (G0076/06). In Anlehnung an die Empfehlungen der Gesellschaft für Versuchstierkunde - Society for Laboratory Animal Science (GV-SOLAS) und des United Kingdom Co-ordinating Committee on Cancer Research (UKCCCR) wurden die Tiere vorzeitig getötet, wenn sie Anzeichen von erheblichem Leiden zeigten.

2.2 Tumor

Es wurden Tumorzellen des Typs Yoshida AH-130 Hepatoma verwendet. Dies hat sich als hervorragendes Modell zur Induzierung einer Tumorkachexie in Wistar-Ratten bewährt. Bezugsquelle war die Arbeitsgruppe von Prof. J.M. Argilés, Cancer Research Group, Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spanien. Der Tumor wurde in Passagiertieren stets weitergezüchtet, vor Inokulation wurde er entnommen und ausgezählt. Sodann wurden 10^8 Zellen den Versuchstieren intraperitoneal injiziert, dies entsprach einer Menge von etwa 1-2ml. Kontrolltiere erhielten Kochsalzlösung in gleicher Menge ebenfalls intraperitoneal injiziert.

2.3 Substanzen

2.3.1 Allopurinol

Allopurinol (s. Abb. 2.1), ein Purin-Analogon mit der IUPAC-Bezeichnung 1H-Pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ol, ist ein Urikostatikum, welches über eine Hemmung der Harnsäurebildung wirkt. Es wird als Gicht-Therapeutikum eingesetzt und dient hierbei dem Enzym Xanthinoxidase als Ersatzsubstrat. Bei steigender Dosis kommt es zu einer nicht-kompetitiven Inhibition des Enzyms.

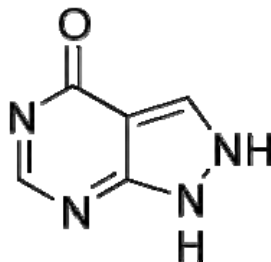


Abb. 2.1: Strukturformel Allopurinol

Im Versuch wurde „Allopurinol HEXAL 100“ der Firma HEXAL AG, Holzkirchen, in den Dosierungen 4mg/kg/d und 40mg/kg/d verwendet. Die Medikation erfolgte per Gavage.

2.3.2 Oxypurinol

Oxypurinol (s. Abb. 2.2) ist der aktive Metabolit von Allopurinol. Es wurde zur Gicht-Therapie bei bestehender Allopurinol-Intoleranz entwickelt.

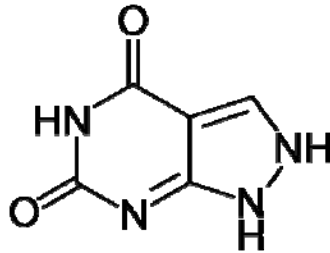


Abb. 2.2: Strukturformel Oxypurinol

Im Versuch wurde „Oxypurinol“ der Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, verwendet. Im Monotherapie-Versuch erfolgte die Gabe in den Dosierungen 4mg/kg/d und 40mg/kg/d, im Kombinationstherapie-Versuch wurden 1mg/kg/d und 3mg/kg/d eingesetzt. Die Medikation erfolgte per Gavage.

2.3.3 Bisoprolol

Bisoprolol (s. Abb. 2.3) ist ein selektiver β_1 -Adrenorezeptoren-Blocker mit der IUPAC-Bezeichnung 1-[4-[2-(1-methylethoxy)ethoxymethyl]phenoxy]-3-(1-methylethylamino)-propan-2-ol. Es wird bei Hypertonie, Angina pectoris und Herzinsuffizienz eingesetzt.

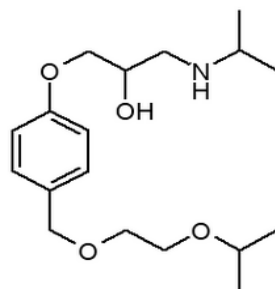


Abb. 2.3: Strukturformel Bisoprolol

Im Kombinationstherapie-Versuch wurde „Concor 10mg“ der Firma Merck Pharma GmbH, Darmstadt, in den Dosierungen 1,25mg/kg/d und 3,75mg/kg/d verwendet. Die Medikation erfolgte per Gavage.

2.3.4 Placebo

Als Placebo wurde Wasser in der Medikation entsprechender Menge per Gavage verabreicht.

2.4 Versuchsplan

Der Versuchsplan setzte sich wie folgt zusammen:

- Tag -1: Aktivitätsmessung, Futterraufnahme
- Tag 0: Echokardiographie
- Tag 1: NMR (Körperzusammensetzung), wiegen, Tumor-Inokulation
- Tag 2: Start der Therapie
- Tag 3/5/7/9: NMR (Körperzusammensetzung), wiegen
- Tag 10: Aktivitätsmessung, Futterraufnahme
- Tag 11: NMR (Körperzusammensetzung), wiegen, Echokardiographie
- Tag 13/15: NMR (Körperzusammensetzung), wiegen
- Tag 16: NMR (Körperzusammensetzung), wiegen, Tötung, Organ- und Blutentnahme

Gruppeneinteilung:

Abkürzungen:

n= Tierzahl; T= mit Tumor; S= ohne Tumor (Sham); K= Kombination;

75= 75% der effektiven Dosis, entspricht 3,75 mg/kg/d Bisoprolol + 3 mg/kg/d Oxypurinol

25= 25% der effektiven Dosis, entspricht 1,25 mg/kg/d Bisoprolol + 1 mg/kg/d Oxypurinol

Monotherapie:

Gruppe	n
Allopurinol 4mg T	12
Allopurinol 40mg T	11
Allopurinol 40mg S	4
Oxypurinol 4mg T	11
Oxypurinol 40mg T	12
Oxypurinol 4mg S	4
Oxypurinol 40mg S	4

Placebo:

Gruppe	n
Placebo T	37
Placebo S	8

Kombinationstherapie:

Gruppe	n
K BisoOxy 75 T	11
K BisoOxy 25 T	8

Die Studie wurde randomisiert und verblindet durchgeführt.

Nach Ablauf des Monotherapie-Versuchs wurden die eingesetzten Dosierungen von Allopurinol und Oxypurinol hinsichtlich ihrer Wirkungen untersucht und die effektive Dosis für den Kombinationstherapie-Versuch bestimmt.

2.5 Methoden

2.5.1 Medikamentenapplikation

Die tägliche Verabreichung der Medikation erfolgte von Tag 2 bis Tag 16 jeweils zwischen 8 Uhr und 9 Uhr am Morgen. Die Applikation per Gavage erfolgte mithilfe spezieller „animal feeding needles“ der Firma Popper, New Hyde Park, New Jersey, USA. Diese sind an der Spitze mit einem weichen Silikonkopf versehen, um so Verletzungen des Rachenraumes zu vermeiden.

2.5.2 Gewichtsmonitoring

Beginnend an Tag 1 des Versuchsplans wurde jeden zweiten Tag eine Gewichtsmessung jeden Tieres vorgenommen. Diese erfolgte mithilfe einer Waage des Typs „CS 2000“ der Firma OHAUS Corporation, Pine Brook, New Jersey, USA.

2.5.3 Monitoring von Futteraufnahme und Bewegungsaktivität

An Tag -1, also vor der Inokulation des Tumors, sowie an Tag 10 des Versuchsplans wurden über einen Zeitraum von je 24 Stunden die Futteraufnahme und spontane Bewegungsaktivität gemessen. Zu diesem Zweck wurden die Tiere einzeln in mit Sägespänen eingestreuten Makrolonkäfigen Typ III ohne Röhre gehalten, welche mit je 100g des Trockenfutters bestückt waren. Nach Ablauf der 24 Stunden wurde der Käfig adspektorisch auf Futterreste untersucht. Soweit vorhanden wurden diese dem nicht vom Tier aufgenommenen Futter wieder hinzugefügt. Das insgesamt verbliebene Futter wurde nun erneut gewogen, die Differenz zur Ausgangsmenge wurde als vom Tier aufgenommenes Futter protokolliert.

Die Käfige befanden sich für die Dauer der Messung in einem „Supermex“-Lokomotor-System der Firma Muromachi Kikai Co., Ltd., Tokyo, Japan (s. Abb. 2.4).

Hier befindet sich über jedem Einzelkäfig ein Infrarot-Bewegungssensor, der alle 10 Minuten eine Messung durchführt. Das Prinzip dieser Messung beruht auf dem pyroelektrischen Effekt. Dieser tritt auf, wenn eine zeitliche Temperaturänderung registriert wird, wie sie eine Bewegung des Wärme abstrahlenden Tiers hervorruft. Die Darstellung der Mess-Ergebnisse durch das „Supermex“-System erfolgte in counts/Tag.

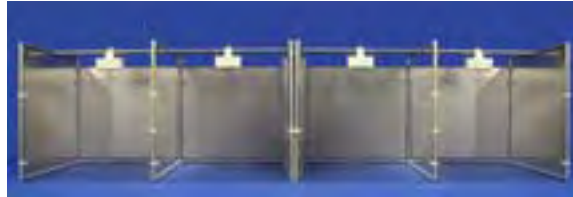


Abb. 2.4: „Supermex“-Lokomotor-System, Muromachi Kikai Co.

2.5.4 Magnetresonanz-Spektroskopie

Beginnend an Tag 1 des Versuchsplans wurde jeden zweiten Tag eine Messung der Körperzusammensetzung mithilfe eines „Echo-MRI 500“-Geräts der Firma Echo Medical Systems, Houston, Texas, USA, durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden die Tiere einzeln und wach in eine Messröhre gesetzt, welche in das Gerät geschoben wurde. Während des etwa 73 Sekunden dauernden Scans wurde die Körperzusammensetzung differenziert nach Fettmasse, fettfreier Masse, freier Flüssigkeit und Gesamtwassergehalt gemessen. Fettfreie Masse, übersetzt aus dem englischen Begriff „lean tissue“, bezeichnet hier die Gesamtheit der Muskeln und Organe. Die Angaben zur Körperzusammensetzung wurden in Gramm dargestellt.

Die Messung beruht auf dem Phänomen der Kernspinresonanz. Hiermit bezeichnet man die Tatsache, dass die durch ein äußeres Magnetfeld ausgerichteten Spins der Atomkerne beim Zurückfallen in den Ausgangszustand elektromagnetische Wellen aussenden, welche gemessen werden können. Daher kann auch auf den Protonengehalt eines Gewebes und somit auf die Körperzusammensetzung rückgeschlossen werden.

2.5.5 Echokardiographie

An den Tagen 0 und 11 des Versuchsplans wurden die Tiere einer echokardiographischen Untersuchung unterzogen. Diese erfolgte mit dem „Vevo 770 High-Resolution Imaging System“ der Firma VisualSonics, Toronto, Kanada.

Die Messung wird ermöglicht durch die Tatsache, dass Schallwellen von verschiedenen Geweben unterschiedlich reflektiert werden. Die im Schallkopf befindlichen piezoelektrischen Kristalle verformen sich bei Anlegen einer Spannung und senden so Ultraschallwellen aus. Die reflektierten Wellen werden wiederum von den Kristallen registriert und in elektrische Spannung umgewandelt. Somit kann ein Bild des beschallten Areals erzeugt werden, in dem verschiedene Gewebe abgrenzbar sind (B- oder brightness-Mode). Ein solches Bild kann auch entlang einer Schnittlinie im Zeitverlauf sichtbar gemacht werden (M- oder time/motion-Mode).

Der Pulsed Wave - Doppler ermöglicht die Bestimmung von Richtung und Geschwindigkeit einer Flüssigkeit. Es werden kurze Pulse von Ultraschallwellen ausgesandt. Die Wellen werden von korpuskulären Bestandteilen, im Blut von Erythrozyten, reflektiert. Durch die Bewegung der Erythrozyten kommt es zu einer Frequenzverschiebung der Schallwelle, wodurch die Darstellung von Strömungsrichtung und -geschwindigkeit des Blutes ermöglicht wird.



Abb. 2.5: Lagerung für die echokardiographische Untersuchung

Die Tiere wurden mittels eines Isofluran-Sauerstoff-Gemisches narkotisiert. Verwendet wurde „Forene“ der Firma Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden. Zur Einleitung der Narkose wurde ein Isofluran-Gehalt von 3,5% gewählt, nach Erreichen des Toleranz-Stadiums ein Gehalt von 2%. Die Einleitung erfolgte in einer Kammer, zur Erhaltung der Narkose während der Untersuchung wurde eine Maske verwendet.

Die Brust der Ratte wurde bis ca. 1cm unterhalb des Rippenbogens geschoren, mit „Veet“-Enthaarungscreme der Firma Reckitt Benckiser, Hull, Großbritannien,

enthaart und anschließend gereinigt. Sodann wurde das Tier in Rückenlage auf dem auf 39° Celsius erwärmten Untersuchungstisch fixiert und an das EKG angeschlossen (s. Abb. 2.5). „Ultrasound Transmission Gel“ der Firma Comedical Sas, Mattarello, Italien, wurde auf die Brust aufgetragen. Die Untersuchung wurde mit dem 25 MHz-Schallkopf RMV-710 B durchgeführt.

Angefertigt wurden Aufnahmen des Herzens von links parasternal und von apikal. In der parasternalen Ausrichtung des Schallkopfes wurde ein Zweikammerblick der linken Herzseite aufgesucht. Hierbei konnten B- und M-Mode-Aufnahmen des linken Ventrikels erstellt werden. Im B-Mode konnten die systolische und diastolische Innenfläche des Ventrikels und dessen Längsachse bestimmt werden. Im M-Mode konnten neben der Herzfrequenz auch die Wandstärken des linken Ventrikels LVPW (left ventricular posterior wall) und IVS (intraventricular septum) in Systole und Diastole ermittelt werden. Ferner erlaubte diese Aufnahme die Bestimmung von end-systolischem (LVESD) und end-diastolischem (LVEDD) Durchmesser des linken Ventrikels. Aus den Ergebnissen dieser Messungen wurden mithilfe der „Vevo 770“ - Software, Version 2.3.0, weitere Parameter ermittelt. Die parasternale Darstellung im B- und M-Mode lieferte die Basis für die Ermittlung der Auswurfsfraktion EF (ejection fraction), des Herzminutenvolumens CO (cardiac output) und der Verkürzung der linken Herzkammer während der Herzaktion FS (fractional shortening). Auch die Masse des linken Ventrikels (LV mass) konnte ermittelt werden.

In der apikalen Darstellung wurde ein Vierkammerblick aufgesucht, in welchem sodann mittels Pulsed Wave - Doppler die Geschwindigkeit des Flüssigkeitsstromes durch die Mitralklappe bestimmt werden konnte. Dieser Flüssigkeitsstrom weist ein biphasisches Erscheinungsbild auf, bedingt durch die Erweiterung des Ventrikels (Peak E) und die folgende Kontraktion des Vorhofs (Peak A). Die Messung wurde auf Höhe der Klappensegelspitzen bei geöffneter Mitralklappe durchgeführt. Das Verhältnis dieser beiden Geschwindigkeitsspitzen wurde bestimmt und als Parameter MV (mitral valve) E/A aufgeführt.

2.5.6 Tötung und Organentnahme

An Tag 16, wo erforderlich auch früher, erfolgte die Tötung der Tiere mit anschließender Organentnahme. Hierzu wurde eine Narkotisierung mittels Ketamin und Xylazin durchgeführt. Verwendet wurden „Ketavet 100mg/ml“, Pfizer, Karlsruhe,

in einer Dosierung von 90mg/kg und „Rompun 2%“, Bayer, Leverkusen, in einer Dosierung von 10mg/kg, aufgezoogen in einer Mischspritze. Die Applikation erfolgte intraperitoneal, bis zum Eintritt der Narkose wurden die Tiere in ihren Käfig zurückgesetzt. Bei Erlöschen von sowohl Lid- als auch Zwischenzehenreflex wurde die Bauchhöhle in der Linea alba per Scherenschlag eröffnet. Die intraperitoneal gelegene Tumorflüssigkeit wurde mit einer Pasteurpipette abgezogen und ihre Menge bestimmt.

Nach der Bestimmung des Tiergewichts ohne Tumor erfolgte eine Messung der Körperzusammensetzung, und separat der Zusammensetzung des Tumors, mittels Magnetresonanz-Spektroskopie. Nun wurde der Brustkorb eröffnet und mit einer heparinisierten Spritze soviel Blut als möglich aus dem linken Ventrikel entnommen. Verwendet wurde „Heparin“ der Firma Rotexmedica, Trittau. Anschließend erfolgte die Tötung des Tieres per zervikaler Translokation.

Anschließend wurden Herz, Lunge, Leber, Milz, Nieren, Nebennieren, das retroperitoneale Fettgewebe einer Körperseite sowie das braune Fett des Nackens entnommen, mit einer Laborwaage „APX 60“ von Denver Instrument, Denver, Colorado, USA, gewogen und bis zur Lagerung im -80°C-Tiefkühlschrank in flüssigem Stickstoff gekühlt. In gleicher Weise wurde mit dem Musculus gastrocnemius, M. soleus, M. extensor digitorum longus und M. tibialis verfahren.

2.5.7 Ermittlung der Tumorzellzahl

Die Zellzahl des intraperitoneal gelegenen, flüssigen Tumors wurde mithilfe einer Zählkammer unter dem Mikroskop bestimmt. Verwendet wurden hierfür eine Neubauer-Zählkammer „Superior“ der Firma Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Lauda-Königshofen, sowie ein „Leica DMIL“-Mikroskop der Firma Leica Microsystems GmbH, Bensheim. 875µl Kochsalzlösung wurden mit 100µl Färbelösung „Trypan Blue Solution“ Fluka, Sigma Aldrich, Buchs, Schweiz, sowie 25µl der Tumorflüssigkeit vermischt. Bei 10facher Vergrößerung wurde die Zellzahl in 24 Zählfeldern erfasst. Aus dem Mittelwert konnte nun die Zellzahl pro ml und hieraus auch die Gesamtzellzahl berechnet werden.

2.5.8 Statistische Auswertung

Die Daten wurden in das Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Office Excel eingepflegt. Die Auswertung und graphische Umsetzung erfolgte mithilfe des

Programms „GraphPad Prism 5.0 for Windows“ der Firma GraphPad Software, San Diego, Kalifornien, USA.

Mittelwerte sind mit Standardfehler angegeben. Das Vorhandensein signifikanter Unterschiede wurde mittels ANOVA und, zwischen zwei Gruppen, mittels ungepaar-tem Student`s t-Test überprüft. Bei nicht signifikantem Ergebnis des zeitgleich mit dem ANOVA-Test durchgeführten Bartlett`s-Test auf gleiche Varianzen erfolgte die Signifikanz-Überprüfung mittels Mann-Whitney-Test für zwei und mittels Kruskal-Wallis-Test für mehr als zwei Gruppen. Die Darstellung der Überlebensanalyse erfolgte in Kaplan-Meier-Kurven. Hier erfolgte die Überprüfung auf signifikante Unterschiede der Überlebenskurven mittels Log-rank-Test. Ein p-Wert von <0.05 wurde jeweils als signifikant angesehen.

3 Ergebnisse

Allgemeine Erläuterungen zu den Tabellen:

Mit „T“ gekennzeichnet sind die Tumor-Gruppen. Diesen wurde eine Menge an Tumorflüssigkeit, die 10^8 Zellen des Yoshida AH-130 Hepatoms entspricht, intraperitoneal injiziert. Mit „S“ gekennzeichnete Sham-Gruppen erhielten NaCl-Lösung in gleicher Menge, die Applikation erfolgte ebenfalls intraperitoneal.

„Allo“ bezeichnet die mit Allopurinol behandelten Gruppen, „Oxy“ und „Biso“ entsprechend die mit Oxypurinol und Bisoprolol behandelten Gruppen. „Kombi 25% eff. Dosis“ und „Kombi 75% eff. Dosis“ bezeichnen die Gruppen, die mit verschiedenen Dosierungen einer kombinierten Medikation aus Oxypurinol und Bisoprolol behandelt wurden (s. Kap. 2.4).

„Ende“ bezeichnet bei Sham-Gruppen das Versuchsende laut Versuchsprotokoll, bei Tumor-Gruppen den Tötungszeitpunkt. „Gewicht Ende“ bezeichnet bei Tumor-Gruppen das mittlere Körpergewicht ohne Tumor. „ Δ Gewicht“ bezieht sich ebenfalls auf das Körpergewicht ohne Tumor. „ Δ Aktivität“ bezeichnet die Veränderung der gemessenen spontanen Bewegungsaktivität an Tag 10, bezogen auf den an Tag 0 gemessenen Wert der jeweiligen Gruppe. Vollständige Bewegungslosigkeit entspräche demnach einem Wert von -1. Prozentangaben sind auf volle Zahlen gerundet und beziehen sich stets auf die in den Tabellen angegebenen Mittelwerte der verschiedenen Gruppen. Die Werte für Δ Gewicht, Δ fettfreie Masse und Δ Fettmasse (in Gramm pro Tag) sind rechnerisch ermittelt. Hierbei muss beachtet werden, dass dies durch Unterschiede in der mittleren Überlebenszeit zwischen den einzelnen Gruppen beeinflusst wird.

3.1 Placebo-Versuch

Mit Placebo behandelte Tiere mit Tumor zeigten signifikante Unterschiede zu Tieren der Gruppe Placebo Sham. Bis Versuchsende veränderte sich das Körpergewicht um -27% (Sham: +28%), die fettfreie Masse um -26% (Sham: +26%) und die Fettmasse um -64% (Sham: +51%). Im direkten Vergleich betrug das mittlere Gewicht der Tumor-Gruppe zum Versuchsende 55% des Gewichts der Sham-Gruppe, die fettfreie Masse 56%. Die Mm. gastrocnemius, EDL und tibialis wogen 55-58%, der M. soleus 70% der entsprechenden Muskeln bei Tieren ohne Tumor.

3 Ergebnisse

Die Fettmasse der Tumor-Gruppe betrug zum Ende des Versuchs 26% der Fettmasse der Sham-Gruppe. Das retroperitoneale weiße Fettgewebe wog 7%, das interskapuläre braune Fett 36% des entsprechenden Gewebes der Sham-Gruppe.

Die Futtermittelaufnahme an Tag 10 betrug durchschnittlich 3g, während Tiere ohne Tumor 20.75g aufnahmen. Die Bewegungsaktivität ging um 71% zurück, bei Tieren ohne Tumor betrug dieser Rückgang 18%. Alle genannten Unterschiede waren statistisch signifikant.

Die Tiere der Sham-Gruppe überlebten bis zum Ende des Versuchs (Tag 16), die Tiere der Tumor-Gruppe zeigten eine mittlere Überlebensdauer von 12.76 ± 0.33 Tagen. Herz, Lunge, Leber, Milz und Niere der Tumor-Gruppe wiesen ein signifikant geringeres Gewicht auf als die jeweiligen Organe der Sham-Tiere. Das Gewicht der Nebenniere war größer, ohne dass dies statistische Signifikanz erreichte. Alle Werte siehe Tabelle 3.1.

Tabelle 3.1 Placebo Sham vs. Placebo Tumor

Parameter	Placebo Sham (n=8)	Placebo Tumor (n=37)
Gewicht Tag 0 (g)	210.12 ± 3.62	203.22 ± 1.56
Gewicht Ende (g)	268.38 ± 5.30	147.95 ± 2.56 ***
Δ Gewicht (g/d)	3.88 ± 0.23	-4.74 ± 0.17 ***
Fettfreie Masse Tag 0 (g)	163.30 ± 3.56	157.17 ± 1.25
Fettfreie Masse Ende (g)	205.66 ± 5.56	115.67 ± 2.23 ***
Δ Fettfreie Masse (g/d)	2.73 ± 0.22	-3.51 ± 0.15 ***
Fettmasse Tag 0 (g)	16.16 ± 0.94	17.87 ± 0.47
Fettmasse Ende (g)	24.32 ± 1.66	6.34 ± 0.56 ***
Δ Fettmasse (g/d)	0.60 ± 0.10	-0.99 ± 0.05 ***
„quality of life“		
Futtermittelaufnahme Tag 10 (g)	20.75 ± 1.08	3.00 ± 0.51 ***
Δ Aktivität	-0.18 ± 0.03	-0.71 ± 0.03 ***
Organgewichte		
Herz (mg)	788.33 ± 19.77	505.21 ± 14.00 ***
Lunge (mg)	1302.79 ± 74.18	885.22 ± 29.57 ***
Milz (mg)	623.36 ± 30.05	163.64 ± 10.01 ***
Leber (mg)	10709.48 ± 456.27	6093.39 ± 227.81 ***
Niere links (mg)	1138.75 ± 37.21	698.41 ± 16.58 ***
Nebenniere links (mg)	28.65 ± 0.96	35.13 ± 1.77
Fett weiß (mg)	1324.00 ± 190.65	86.38 ± 26.43 ***
Fett braun (mg)	218.26 ± 15.16	78.59 ± 3.14 ***
M. gastrocnemius (mg)	1290.79 ± 40.00	713.22 ± 14.07 ***
M. soleus (mg)	100.07 ± 3.00	69.73 ± 1.43 ***
M. EDL (mg)	109.95 ± 3.71	63.66 ± 1.48 ***
M. tibialis (mg)	466.99 ± 13.06	262.49 ± 6.10***

p < 0.001: *** p > 0.05: nicht signifikant t-Test vs. Placebo Sham

Bei der echokardiographischen Untersuchung zeigten sich an Tag 0 keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen. An Tag 11 zeigten sich signifikant niedrigere Werte für die Tumor-Gruppe bei den Parametern EF, FS, CO und LV mass. MV E/A wies keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen auf. Der intraventrikuläre Durchmesser des linken Ventrikels der Tumor-Gruppe zeigte sich in der Systole signifikant größer, in der Diastole signifikant kleiner als bei der Sham-Gruppe. Die Wandstärke des interventrikulären Septums wies in der Systole einen signifikant niedrigeren Wert auf als bei den Tieren der Sham-Gruppe, in der Diastole zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Der Durchmesser der hinteren Wand des linken Ventrikels zeigte sich bei den Tieren der Tumor-Gruppe in Systole wie Diastole signifikant geringer im Vergleich zu den Tieren ohne Tumor. Alle angegebenen Parameter siehe Tabelle 3.2. Der n-Zahl für die Gruppe Placebo Tumor in dieser Tabelle liegt die Anzahl der zu diesem Zeitpunkt vorhandenen Tiere zugrunde.

Tabelle 3.2 Placebo Sham vs. Placebo Tumor: Echokardiographische Parameter

Parameter		Placebo Sham (n=8)	Placebo Tumor (n=30)
EF (%)	Tag 0	74.65 ± 2.97	74.74 ± 1.47
	Tag 11	77.22 ± 3.33	48.94 ± 2.77 ***
FS (%)	Tag 0	47.44 ± 2.21	49.17 ± 1.16
	Tag 11	51.84 ± 1.97	28.13 ± 2.23 ***
CO (ml/min)	Tag 0	74.46 ± 7.31	83.00 ± 2.93
	Tag 11	84.59 ± 7.99	32.75 ± 4.63 ***
LV mass (mg)	Tag 0	588.72 ± 35.89	527.13 ± 12.32
	Tag 11	709.49 ± 50.17	401.74 ± 10.88 ***
MV E/A	Tag 0	1.66 ± 0.09	1.55 ± 0.05
	Tag 11	1.61 ± 0.11	1.58 ± 0.31
LVESD (mm)	Tag 0	3.26 ± 0.19	3.17 ± 0.09
	Tag 11	3.09 ± 0.16	3.94 ± 0.13 **
LVEDD (mm)	Tag 0	6.18 ± 0.13	6.22 ± 0.08
	Tag 11	6.39 ± 0.10	5.48 ± 0.09 ***
IVS sys (mm)	Tag 0	2.86 ± 0.14	2.75 ± 0.05
	Tag 11	2.99 ± 0.12	2.20 ± 0.07 ***
IVS dia (mm)	Tag 0	1.66 ± 0.13	1.57 ± 0.03
	Tag 11	1.70 ± 0.09	1.52 ± 0.05
LV PW sys (mm)	Tag 0	2.89 ± 0.10	2.78 ± 0.05
	Tag 11	3.25 ± 0.15	2.11 ± 0.07 ***
LV PW dia (mm)	Tag 0	1.94 ± 0.09	1.75 ± 0.05
	Tag 11	2.23 ± 0.16	1.63 ± 0.04 ***

p < 0.001: *** p < 0.01: ** p > 0.05: nicht signifikant t-Test vs. Placebo Sham

3.2 Monotherapie Sham-Versuch

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Parameter Gesamtgewicht und fettfreie Masse. Die Gruppe Oxypurinol 4mg wies zum Versuchsende eine signifikant höhere Fettmasse auf als die Placebo-Gruppe. Die durchschnittliche Zunahme pro Tag zeigte hier keinen signifikanten Unterschied zwischen diesen Gruppen. Die Fettmasse am Versuchsende der Gruppe Oxypurinol 40mg war im Vergleich mit der niedrig dosierten Oxypurinol-Gruppe signifikant geringer, in der täglichen Zunahme zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied. Eine Übersicht der Daten für Gesamtgewicht, fettfreie Masse und Fettmasse findet sich in Tabelle 3.3.

Tabelle 3.3 Monotherapie Sham-Versuch: Gewicht, fettfreie Masse, Fettmasse

Parameter [Signifikanz]	Placebo Sham (n=8)	Allo 40mg Sham (n=4)	Oxy 4mg Sham (n=4)	Oxy 40mg Sham (n=4)
Gewicht Tag 0 (g) [ns]	210.12 ± 3.62	217.25 ± 7.60	218.00 ± 3.00	206.25 ± 1.18
Gewicht Ende (g) [ns]	268.38 ± 5.30	278.75 ± 7.82	278.50 ± 7.03	259.25 ± 7.76
Δ Gewicht (g/d) [ns]	3.88 ± 0.23	4.10 ± 0.40	4.19 ± 0.46	3.53 ± 0.57
Fettfreie Masse Tag 0 (g) [ns]	163.30 ± 3.56	166.92 ± 3.84	168.00 ± 2.89	160.29 ± 1.19
Fettfreie Masse Ende (g) [ns]	205.66 ± 5.56	210.42 ± 4.26	207.15 ± 5.97	194.33 ± 5.15
Δ Fettfreie Masse (g/d) [ns]	2.73 ± 0.22	2.90 ± 0.31	2.70 ± 0.37	2.27 ± 0.34
Fettmasse Tag 0 (g) [ns]	16.16 ± 0.94	19.83 ± 2.84	20.97 ± 0.85	18.31 ± 1.63
Fettmasse Ende (g) [*]	24.32 ± 1.66	29.24 ± 2.50	32.83 ± 0.62 ** ^a	27.95 ± 1.85
Δ Fettmasse (g/d) [ns]	0.60 ± 0.10	0.63 ± 0.04	0.82 ± 0.10	0.64 ± 0.15

p < 0.01: ** p < 0.05: * p > 0.05: nicht signifikant (ns) [*] = ANOVA

* = t-Test vs. Placebo Sham; entsprechend gilt:

^a = vs. Oxy 40mg Sham

Bei der Futteraufnahme zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Die Spontanaktivität ging bei der Placebo-Gruppe am stärksten zurück, ohne dass dies statistische Signifikanz erreichte (s. Tabelle 3.4).

Die hoch dosierte Oxypurinol-Gruppe wies im Vergleich mit der niedriger dosierten Oxypurinol-Gruppe und der gleich hoch dosierten Allopurinol-Gruppe ein signifikant geringeres Gewicht für den M. gastrocnemius auf. Die Gruppe Allopurinol 40mg

zeigte ein signifikant geringeres Gewicht der Nebenniere, verglichen mit der Placebo-Gruppe. Es zeigten sich außer den genannten keine weiteren Signifikanzen (s. Tabelle 3.4).

Tabelle 3.4 Monotherapie Sham-Versuch: "quality of life" und Organgewichte

Parameter [Signifikanz]	Placebo Sham (n=8)	Allo 40mg Sham (n=4)	Oxy 4mg Sham (n=4)	Oxy 40mg Sham (n=4)
„quality of life“				
Futteraufnahme Tag 10 (g) [ns]	20.75 ± 1.08	22.00 ± 0.82	21.25 ± 1.18	20.74 ± 1.44
Δ Aktivität [ns]	-0.18 ± 0.03	-0.14 ± 0.05	-0.07 ± 0.08	0.01 ± 0.04
Organgewichte				
Herz (mg) [ns]	788.33 ± 19.77	761.35 ± 26.42	812.17 ± 8.00	758.35 ± 43.78
Lunge (mg) [ns]	1302.79 ± 74.18	1236.68 ± 29.19	1270.37 ± 55.45	1101.05 ± 21.37
Milz (mg) [ns]	623.36 ± 30.05	689.27 ± 44.82	607.33 ± 30.66	635.38 ± 34.42
Leber (mg) [ns]	10709.48 ± 456.27	10400.48 ± 536.63	10129.93 ± 508.17	9836.02 ± 465.38
Niere links (mg) [ns]	1138.75 ± 37.21	1028.35 ± 43.67	1053.15 ± 26.60	1145.68 ± 70.73
Nebenniere links (mg) [*]	28.65 ± 0.96	23.32 ± 0.99 **	24.70 ± 1.66	24.72 ± 1.76
Fett weiß (mg) [ns]	1324.00 ± 190.65	1389.33 ± 183.06	1731.93 ± 173.51	1266.32 ± 66.57
Fett braun (mg) [ns]	218.26 ± 15.16	218.70 ± 20.17	204.92 ± 11.76	230.23 ± 9.30
M. gastroc- nemius (mg) [*]	1290.79 ± 40.00	1380.03 ± 25.28 ^{aaa}	1325.98 ± 38.45 ^a	1190.72 ± 17.83
M. soleus (mg) [ns]	100.07 ± 3.00	103.52 ± 5.91	102.05 ± 4.66	95.05 ± 2.90
M. EDL (mg) [ns]	109.95 ± 3.71	117.40 ± 1.40	113.17 ± 4.31	106.63 ± 3.04
M. tibialis (mg) [ns]	466.99 ± 13.06	465.68 ± 11.33	464.65 ± 24.80	447.23 ± 15.73

p < 0.001: *** p < 0.01: ** p < 0.05: * p > 0.05: nicht signifikant (ns) [*] = ANOVA

* = t-Test vs. Placebo Sham

entsprechend gilt:

^a = vs. Oxy 40mg Sham

In der echokardiographischen Untersuchung (s. Tabelle 3.5) zeigten die untersuchten Parameter der mit XO-Inhibitoren behandelten Gruppen keine signifikant unterschiedlichen Werte im Vergleich zur Placebo-Gruppe. Die einzige Ausnahme bildete die linksventrikuläre Masse an Tag 11, welche im Fall der Gruppe Allopurinol 40mg signifikant niedriger war als bei der Placebo-Gruppe.

3 Ergebnisse

Tabelle 3.5 Monotherapie Sham-Versuch: Echokardiographische Parameter

Parameter		Placebo Sham (n=8)	Allo 40mg Sham (n=4)	Oxy 4mg Sham (n=4)	Oxy 40mg Sham (n=4)
EF (%)	Tag 0 [ns]	74.65 ± 2.97	65.24 ± 3.80	65.27 ± 3.57	61.33 ± 3.51
	Tag 11 [ns]	77.22 ± 3.33	74.21 ± 1.81	73.84 ± 3.48	71.56 ± 2.14
FS (%)	Tag 0 [ns]	47.44 ± 2.21	48.50 ± 4.25	45.75 ± 4.47	46.85 ± 4.82
	Tag 11 [ns]	51.84 ± 1.97	49.84 ± 3.13	53.96 ± 6.08	55.31 ± 2.32
CO (ml/min)	Tag 0 [ns]	74.46 ± 7.31	70.34 ± 9.34	66.40 ± 7.19	61.41 ± 6.94
	Tag 11 [ns]	84.59 ± 7.99	102.71 ± 9.12	86.90 ± 5.60	97.80 ± 5.57
LV mass (mg)	Tag 0 [ns]	588.72 ± 35.89	572.26 ± 45.52	628.47 ± 13.26	504.05 ± 62.68
	Tag 11 [#]	709.49 ± 50.17	536.18 ± 31.33 #	620.11 ± 21.47	546.43 ± 42.56
MV E/A	Tag 0 [ns]	1.66 ± 0.09	1.83 ± 0.17	1.46 ± 0.20	1.66 ± 0.22
	Tag 11 [ns]	1.61 ± 0.11	1.43 ± 0.01	1.31 ± 0.04	1.43 ± 0.09
LV ESD (mm)	Tag 0 [ns]	3.26 ± 0.19	3.33 ± 0.37	3.47 ± 0.38	3.54 ± 0.37
	Tag 11 [ns]	3.09 ± 0.16	3.29 ± 0.11	2.97 ± 0.48	2.93 ± 0.19
LV EDD (mm)	Tag 0 [ns]	6.18 ± 0.13	6.41 ± 0.26	6.35 ± 0.21	6.64 ± 0.14
	Tag 11 [ns]	6.39 ± 0.10	6.60 ± 0.30	6.38 ± 0.23	6.55 ± 0.14
IVS sys (mm)	Tag 0 [ns]	2.86 ± 0.14	2.74 ± 0.21	2.69 ± 0.07	2.50 ± 0.19
	Tag 11 [ns]	2.99 ± 0.12	2.77 ± 0.08	2.91 ± 0.27	2.78 ± 0.15
IVS dia (mm)	Tag 0 [ns]	1.66 ± 0.13	1.47 ± 0.18	1.61 ± 0.07	1.36 ± 0.11
	Tag 11 [ns]	1.70 ± 0.09	1.51 ± 0.08	1.55 ± 0.11	1.51 ± 0.10
LV PW sys (mm)	Tag 0 [ns]	2.89 ± 0.10	3.02 ± 0.19	3.12 ± 0.20	2.76 ± 0.31
	Tag 11 [ns]	3.25 ± 0.15	2.74 ± 0.11	3.34 ± 0.27	3.29 ± 0.07
LV PW dia (mm)	Tag 0 [ns]	1.94 ± 0.09	1.93 ± 0.09	2.06 ± 0.10	1.61 ± 0.18
	Tag 11 [ns]	2.23 ± 0.16	1.65 ± 0.20	2.07 ± 0.10	1.70 ± 0.13

p < 0.05: # p > 0.05: nicht signifikant (ns) [#] = Kruskal-Wallis-Test
 #: Mann-Whitney-Test vs. Placebo Sham

3.3 Monotherapie Tumor-Versuch

3.3.1 Tumorwachstum

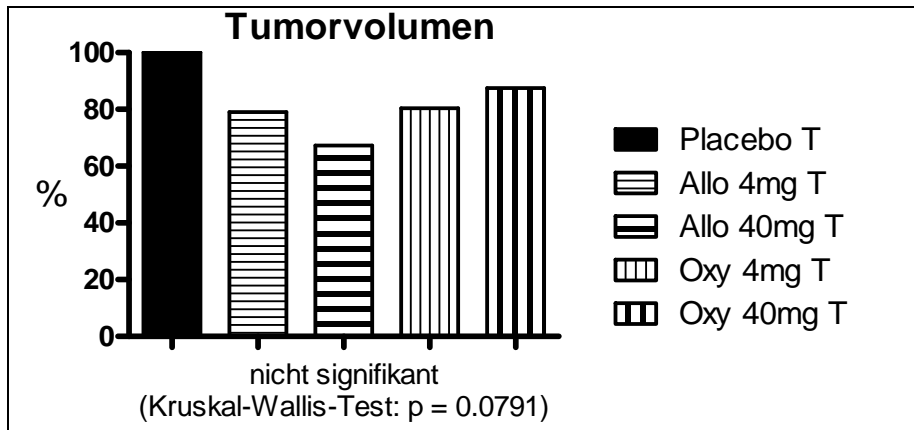


Abb. 3.1 Tumorflüssigkeit in der Bauchhöhle
Darstellung: Mittelwerte, relativ zur Gruppe Placebo Tumor (T)
(Placebo T: $n=37$, Allo/Oxy 4mg T: $n=11$, Allo/Oxy 40mg T: $n=12$)

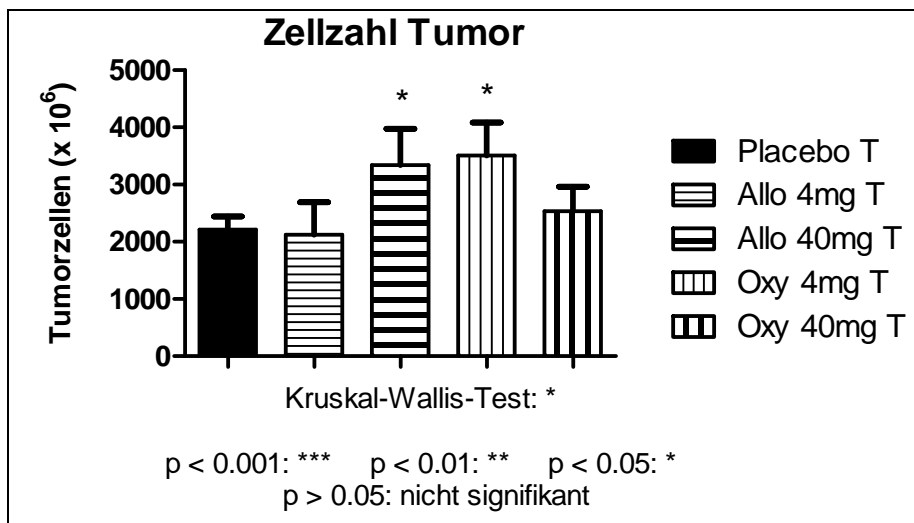


Abb. 3.2 Mittlere Zellzahl in der Tumorflüssigkeit
Dargestellte Signifikanzen: Mann-Whitney-Test vs. Placebo T
(Placebo T: $n=37$, Allo/Oxy 4mg T: $n=11$, Allo/Oxy 40mg T: $n=12$)

Alle Behandlungsgruppen wiesen zu Versuchsende eine geringere Menge des in der Bauchhöhle vorhandenen Tumors auf als die Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.1). Die Behandlungsgruppe Allopurinol 40mg wies eine deutlich geringere Menge an Tumorflüssigkeit auf als die Placebo-Gruppe, ohne dass dies statistische Signifikanz erreichte. Im Vergleich der Gesamtzahl an Tumorzellen zeigten sich signifikante

3 Ergebnisse

Unterschiede zwischen der Placebo-Gruppe und den Gruppen Allopurinol 40mg und Oxypurinol 4mg (s. Abb. 3.2).

3.3.2 Überleben

Im Log-rank-Test zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Überlebenskurven der verschiedenen Gruppen (s. Abb. 3.3). Alle Behandlungsgruppen zeigten eine im direkten Vergleich mit der Placebo-Gruppe jeweils signifikant unterschiedliche Überlebenskurve mit höherer Überlebenschance (s. Tab. 3.6). Die Gruppen Oxypurinol 4mg und Allopurinol 40mg hatten die mit 54.5% ($p=0.001$ bzw. $p=0.0024$ vs. Placebo) höchste Überlebenschance der Behandlungsgruppen. Es folgten Allopurinol 4mg und Oxypurinol 40mg mit einer Überlebenschance von jeweils 33.3% ($p=0.0207$ bzw. $p=0.0301$ vs. Placebo). Die Placebo-Gruppe wies hier einen Wert von 5.4% auf.

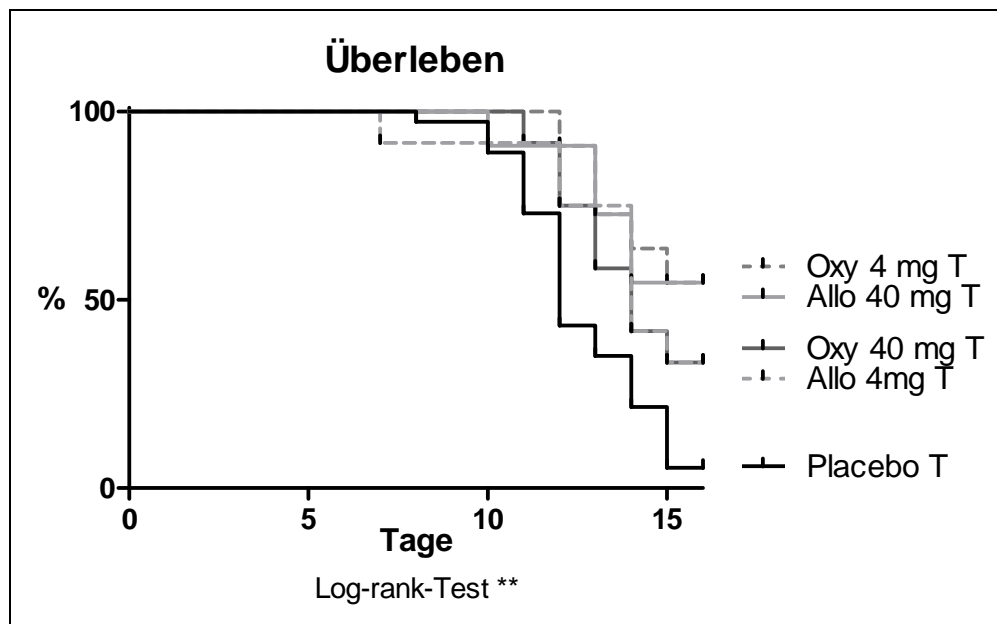


Abb. 3.3 Kaplan-Meier-Darstellung der Mortalität (Placebo T: n=37, Allo/Oxy 4mg T: n=11, Allo/Oxy 40mg T: n=12) Log-rank-Test: $p = 0.0037$

Die Hazard Ratio aller Medikations-Gruppen lag unter 0.43, das 95%-Konfidenz-Intervall unter 1. Die niedrigste Hazard Ratio wies die Gruppe Oxypurinol 4mg mit einem Wert von 0.2738 (CI: 0.1267 – 0.5918, p=0.001) auf.

Tabelle 3.6 Überlebensanalyse: Monotherapie Tumor (T) vs. Placebo Tumor

	Allo 4mg T	Allo 40mg T	Oxy 4mg T	Oxy 40mg T
hazard ratio	0.4030	0.3011	0.2738	0.4297
95% CI	0.1867 – 0.8702	0.1389 – 0.6530	0.1267 – 0.5918	0.2002 – 0.9220
p (Log-rank)	0.0207 *	0.0024 **	0.0010 ***	0.0301 *

Allo/Oxy 4mg T: n=11, Allo/Oxy 40mg T: n=12, Placebo Tumor: n=37
CI= confidence interval

3.3.3 Gewicht und Körperzusammensetzung

An Tag 0 wiesen alle Behandlungsgruppen, trotz Randomisierung der Tiere in die einzelnen Gruppen, ein signifikant höheres Gesamtgewicht auf als die Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.4). Das Gewicht der Gruppe Allopurinol 4mg war zudem signifikant höher als das der Gruppen Allopurinol 40mg und Oxypurinol 40mg (s. Tabelle 3.7). Zu Versuchsende zeigten sich innerhalb der Behandlungsgruppen keine Signifikanzen. Das Gesamtgewicht aller Behandlungsgruppen zu Versuchsende war signifikant höher als das der Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.5).

Alle Gruppen verloren im Versuchszeitraum an Gewicht (s. Abb. 3.6). Der mittlere Gesamtverlust wie auch der mittlere tägliche Verlust der Behandlungsgruppen mit Allopurinol sowie mit niedrig dosiertem Oxypurinol war signifikant geringer als der entsprechende Wert der Placebo-Gruppe. Der Unterschied des im Vergleich zur Placebo-Gruppe im Mittel ebenfalls geringeren gesamten und täglichen Verlusts an Gewicht der Gruppe Oxypurinol 40 erreichte keine statistische Signifikanz (s. Abb. 3.7 und Tabelle 3.7).

Auch bei der fettfreien Masse zeigten alle behandelten Gruppen geringere Verluste insgesamt und pro Tag (s. Abb. 3.8 und 3.9). Die Gesamtverluste und die täglichen Verluste aller Behandlungsgruppen mit Ausnahme von Oxypurinol 40mg waren signifikant geringer als bei der Placebo-Gruppe. Signifikanzen zwischen den Behandlungsgruppen bestanden nicht.

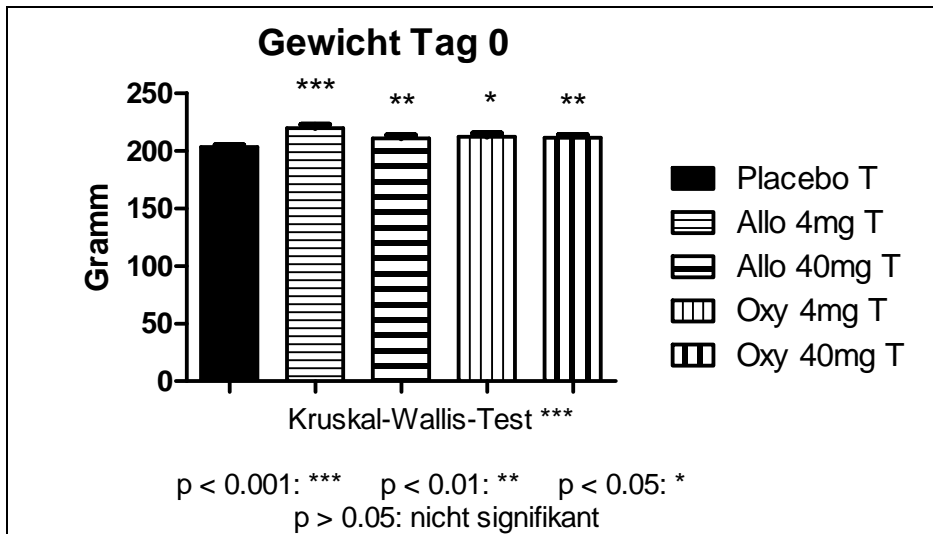


Abb. 3.4 Mittleres Körpergewicht an Tag 0
Dargestellte Signifikanzen: Mann-Whitney-Test vs. Placebo T
(Placebo T: n=37, Allo/Oxy 4mg T: n=11, Allo/Oxy 40mg T: n=12)

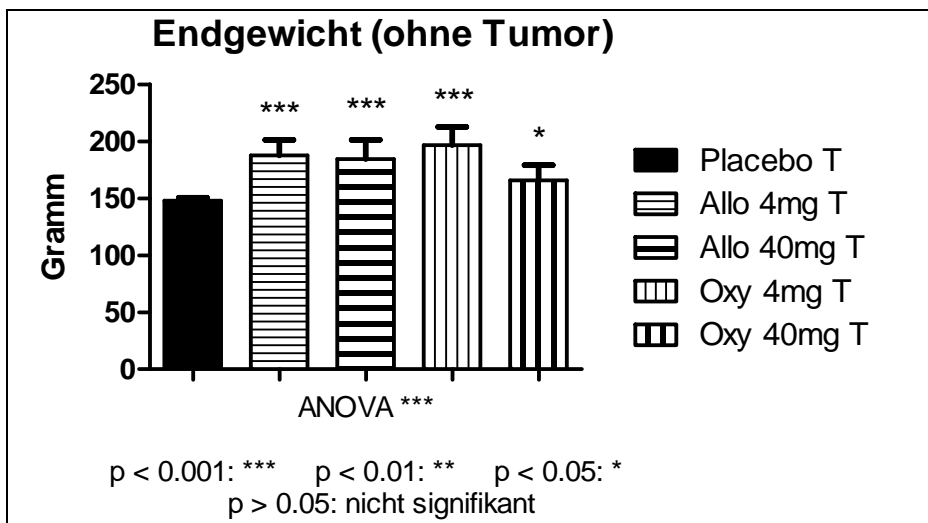


Abb. 3.5 Mittleres Körpergewicht ohne Tumor zum Tötungszeitpunkt
Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
(Placebo T: n=37, Allo/Oxy 4mg T: n=11, Allo/Oxy 40mg T: n=12)

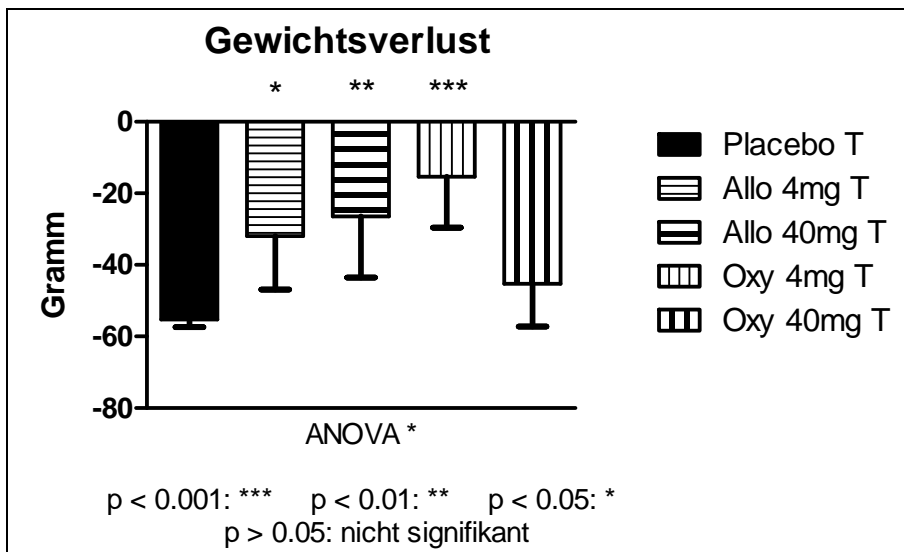


Abb. 3.6 Mittlerer Gewichtsverlust über den Versuchszeitraum
 Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Allo/Oxy 4mg T: n=11, Allo/Oxy 40mg T: n=12)

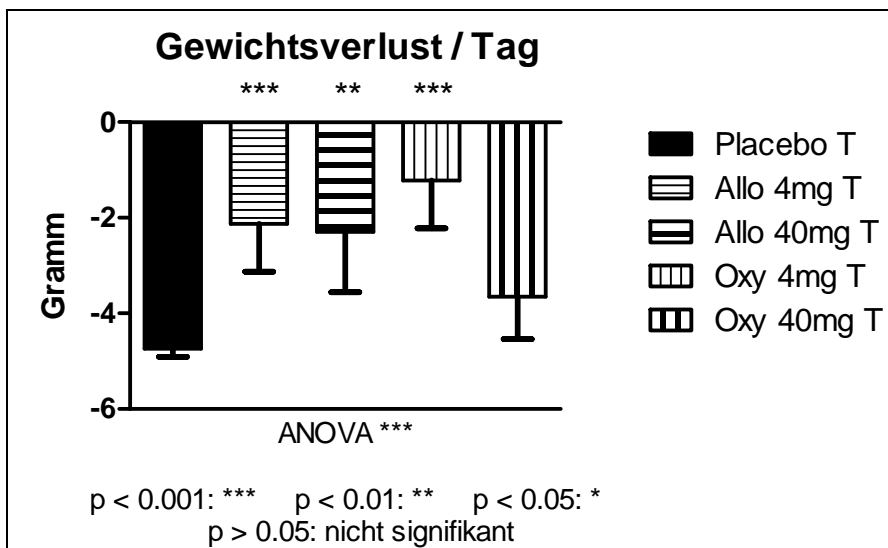


Abb. 3.7 Mittlerer Gewichtsverlust pro Tag
 Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Allo/Oxy 4mg T: n=11, Allo/Oxy 40mg T: n=12)

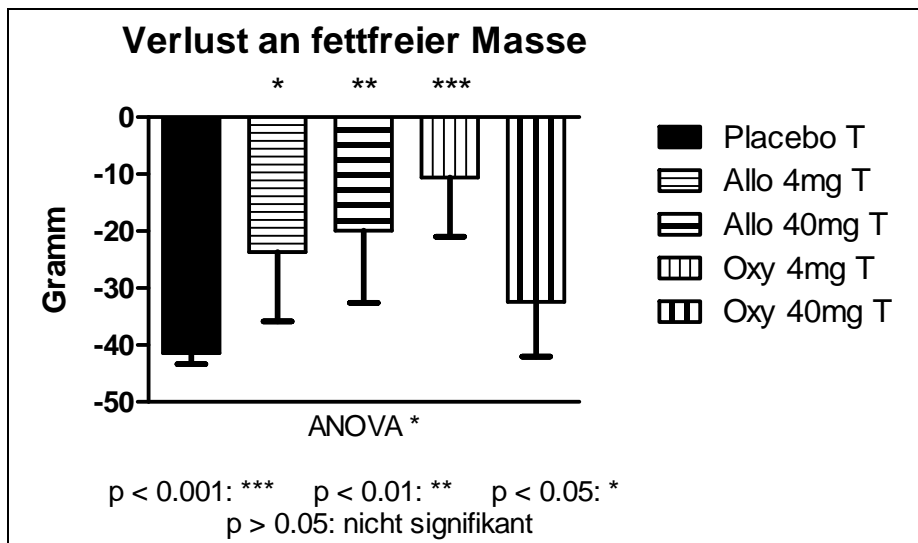


Abb. 3.8 Mittlerer Verlust an fettfreier Masse über den Versuchszeitraum
 Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Allo/Oxy 4mg T: n=11, Allo/Oxy 40mg T: n=12)

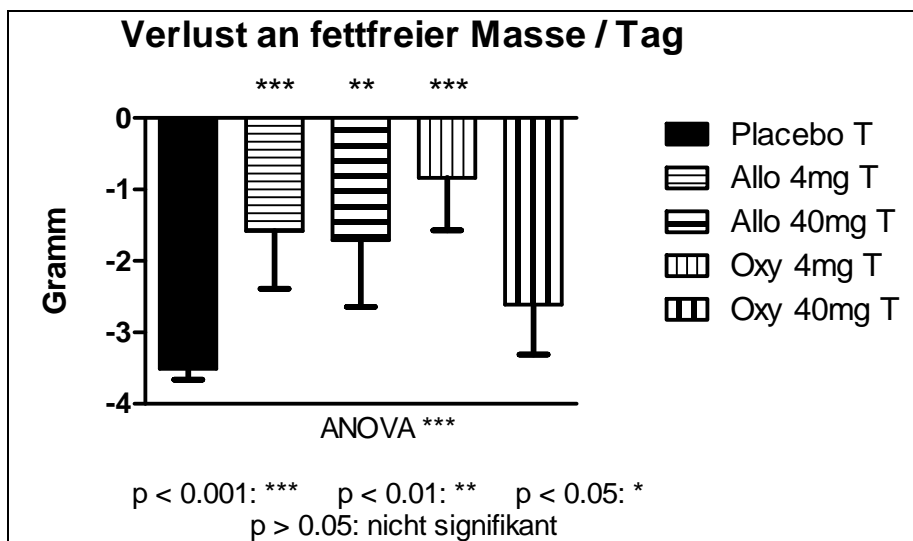


Abb. 3.9 Mittlerer Verlust an fettfreier Masse pro Tag
 Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Allo/Oxy 4mg T: n=11, Allo/Oxy 40mg T: n=12)

Die Behandlungsgruppe Oxypurinol 4mg zeigte einen signifikant niedrigeren mittleren Verlust an Fettmasse als die Placebo-Gruppe. Die Allopurinol-Gruppen wiesen geringere mittlere Verluste an Fettmasse auf als die Placebo-Gruppe, der Unterschied war nicht signifikant. Die Oxypurinol 40mg-Gruppe wies einen signifikant höheren mittleren Verlust an Fettmasse auf als die Placebo-Gruppe (s.

Abb. 3.10). Setzte man den mittleren Verlust an Fettmasse in Bezug zur Überlebensdauer, so zeigten die 4mg-Dosierungen von Allopurinol und Oxypurinol niedrigere mittlere Verluste pro Tag als die Placebo-Gruppe.

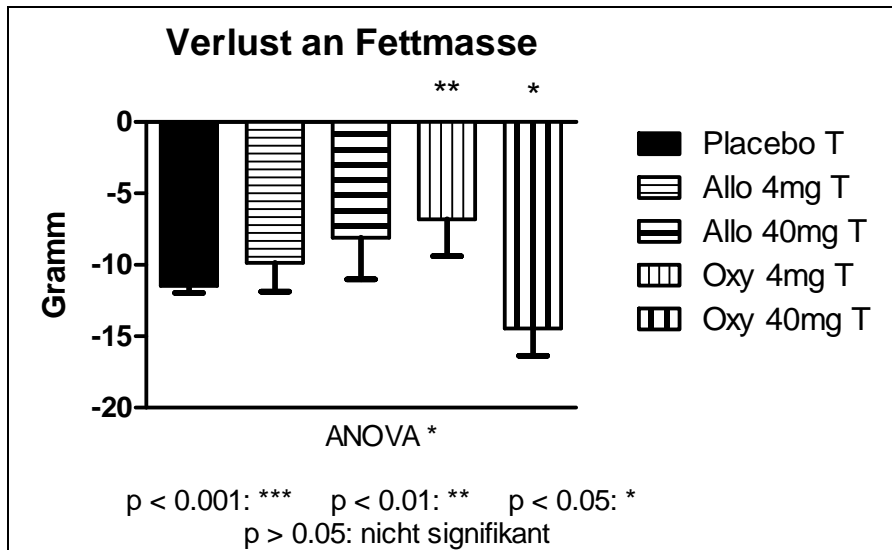


Abb. 3.10 Mittlerer Verlust an Fettmasse über den Versuchszeitraum
Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
(Placebo T: n=37, Allo/Oxy 4mg T: n=11, Allo/Oxy 40mg T: n=12)

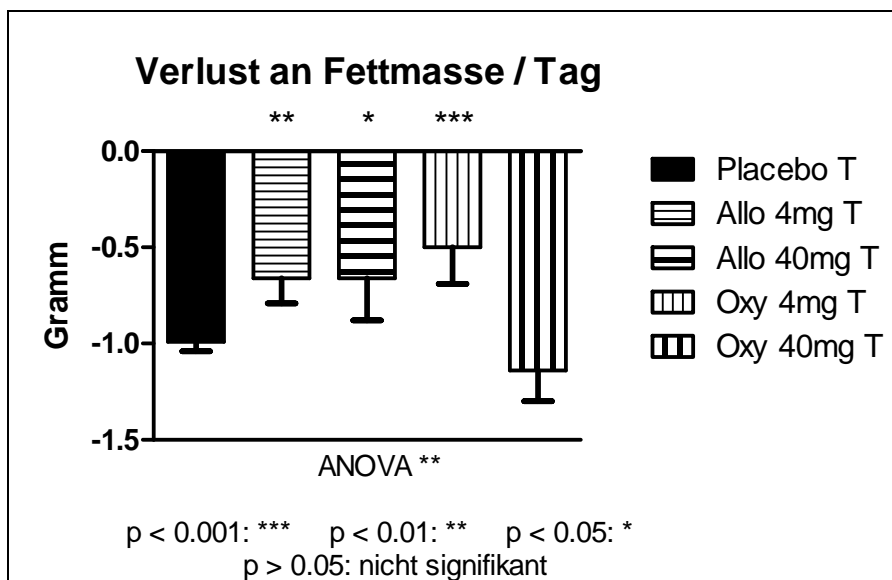


Abb. 3.11 Mittlerer Verlust an Fettmasse pro Tag
Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
(Placebo T: n=37, Allo/Oxy 4mg T: n=11, Allo/Oxy 40mg T: n=12)

3 Ergebnisse

Diese Unterschiede waren statistisch signifikant. Die Allopurinol 40mg-Gruppe wies ebenfalls einen signifikant niedrigeren mittleren Verlust an Fettmasse pro Tag auf als die Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.9).

Oxypurinol 40mg wies einen größeren täglichen Verlust an Fettmasse auf als die Placebo-behandelte Gruppe, dies erreichte keine statistische Signifikanz (s. Abb. 3.11). Die niedrigen Dosierungen beider Wirkstoffe zeigten gegenüber Oxypurinol 40mg signifikant niedrigere Verluste an Fettmasse pro Tag.

Eine Auflistung der Daten für Gewicht, fettfreie Masse und Fettmasse findet sich in Tabelle 3.7.

Tabelle 3.7 Monotherapie Tumor (T)-Versuch: Gewicht, fettfreie Masse, Fettmasse

Parameter [Signifikanz]	Placebo T (n=37)	Allo 4mg T (n=11)	Allo 40mg T (n=12)	Oxy 4mg T (n=11)	Oxy 40mg T (n=12)
Gewicht Tag 0 (g) [###]	203.22 ± 1.56	219.50 ± 3.24 ###	210.64 ± 2.75 ## a	212.00 ± 3.07 #	211.17 ± 2.56 ## a
Gewicht Ende (g) [***]	147.95 ± 2.56	187.58 ± 13.62 ***	184.18 ± 17.02 ***	196.64 ± 15.95 ***	165.83 ± 13.11 *
entspricht (% von Tag 0)	73%	86%	87%	93%	79%
Δ Gewicht (g/d) [***]	-4.74 ± 0.17	-2.13 ± 1.00 ***	-2.30 ± 1.26 **	-1.22 ± 1.00 ***	-3.65 ± 0.89
Fettfreie Masse Tag 0 (g) [##]	157.17 ± 1.25	170.86 ± 2.63 ###	161.43 ± 2.15 # a	161.65 ± 2.63 a	159.07 ± 2.13 aa
Fettfreie Masse Ende (g) [**]	115.67 ± 2.23	147.18 ± 11.75 ***	141.51 ± 12.64 **	151.06 ± 12.06 ***	126.64 ± 10.41
entspricht (% von Tag 0)	74%	86%	88%	94%	80%
Δ Fettfreie Masse (g/d) [**]	-3.51 ± 0.15	-1.58 ± 0.81 ***	-1.71 ± 0.93 **	-0.84 ± 0.73 ***	-2.61 ± 0.70
Fettmasse Tag 0 (g) [##]	17.87 ± 0.47	19.83 ± 1.15	19.77 ± 0.79	20.14 ± 1.05 #	23.06 ± 1.12 ###
Fettmasse Ende (g) [*]	6.34 ± 0.56	9.97 ± 1.63 **	11.69 ± 2.84 **	13.34 ± 2.71 ***	8.61 ± 2.13
entspricht (% von Tag 0)	36%	50%	59%	66%	37%
Δ Fettmasse (g/d) [**]	-0.99 ± 0.05	-0.66 ± 0.13 **	-0.66 ± 0.22 *	-0.50 ± 0.19 ***	-1.14 ± 0.16 a b

p < 0.001: *** p < 0.01: ** p < 0.05: * p > 0.05: nicht signifikant (ns)

[*] = ANOVA

[#] = Kruskal-Wallis-Test

* = t-Test vs. Placebo T

= Mann-Whitney-Test vs. Placebo T;

entsprechend gilt:

^a = vs. Allo 4mg T

^b = vs. Oxy 4mg T

3.3.4 Innere Organe, Fettgewebe und Skelettmuskulatur

Die Gruppe Oxypurinol 40mg wies signifikant höhere Gewichte für weißes und braunes Fett auf als die Placebo-Gruppe, sowie eine im Vergleich zur Gruppe Allopurinol 4mg signifikant leichtere Niere. In Bezug auf die Gruppe Oxypurinol 40mg zeigten sich keine weiteren Signifikanzen.

Die Gruppen Allopurinol 4mg, Allopurinol 40mg und Oxypurinol 4mg wiesen signifikant höhere Organgewichte für Milz, Leber, weißes (s. Abb. 3.12) und braunes Fettgewebe sowie für die Mm. gastrocnemius, EDL und tibialis auf als die Placebo-Gruppe (s. Tabelle 3.8). Niere und Lunge der Allopurinol-Gruppen waren signifikant schwerer als bei der Placebo-Gruppe. Das Gewicht der Niere der Gruppe Oxypurinol 4mg war signifikant geringer als das der Gruppe Allopurinol 40mg.

Keine Signifikanzen bestanden bei dem mittleren Organgewicht des Herzens, der Nebenniere und des M. soleus der verschiedenen Gruppen. Zwischen den Behandlungsgruppen bestanden außer den genannten keine weiteren Signifikanzen. Alle angegebenen Parameter siehe Tabelle 3.8.

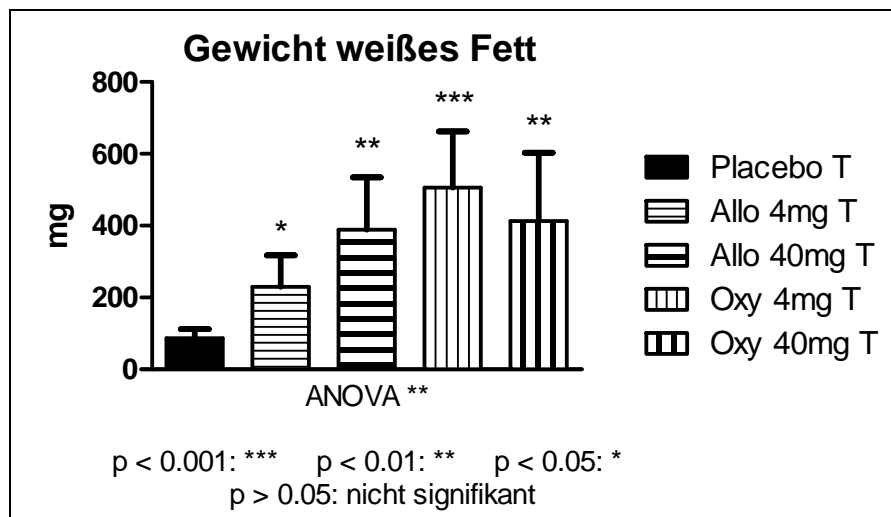


Abb. 3.12 Mittleres Gewicht des retroperitonealen weißen Fettgewebes
Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
(Placebo T: n=37, Allo/Oxy 4mg T: n=11, Allo/Oxy 40mg T: n=12)

3 Ergebnisse

Tabelle 3.8 Monotherapie Tumor (T)-Versuch: „quality of life“ und Organgewichte

Parameter [Signifikanz]	Placebo T (n=37)	Allo 4mg T (n=11)	Allo 40mg T (n=12)	Oxy 4mg T (n=11)	Oxy 40mg T (n=12)
„quality of life“					
Futtermaufnahme Tag 10 (g) [***]	3.00 ± 0.51	9.82 ± 2.83 ***	9.82 ± 3.16 ***	13.00 ± 2.90 ***	5.75 ± 2.18
Δ Aktivität [**]	-0.71 ± 0.03	-0.55 ± 0.10 *	-0.43 ± 0.10 ***	-0.38 ± 0.09 ***	-0.54 ± 0.10 *
Organgewichte					
Herz (mg) [ns]	505.21 ± 14.00	614.56 ± 41.81	568.79 ± 36.66	578.71 ± 39.80	518.93 ± 29.74
Lunge (mg) [*]	885.22 ± 29.57	1138.89 ± 112.06 **	1041.87 ± 82.08 *	989.10 ± 58.58	935.93 ± 58.22
Milz (mg) [**]	163.64 ± 10.01	333.91 ± 69.77 ***	310.49 ± 66.88 ***	359.64 ± 63.20 ***	231.31 ± 53.98
Leber (mg) [#]	6093.39 ± 227.81	8059.92 ± 711.08 #	7702.18 ± 660.75 #	7927.92 ± 656.71 #	6431.31 ± 496.62
Niere links (mg) [##]	698.41 ± 16.58	837.02 ± 44.48 ##	830.38 ± 30.65 ##	757.15 ± 50.36 ^b	706.99 ± 34.86 ^a
Nebenniere links (mg) [ns]	35.13 ± 1.77	30.95 ± 1.47	28.82 ± 1.68	29.43 ± 1.20	30.04 ± 2.23
Fett weiß (mg) [**]	86.38 ± 26.43	229.50 ± 88.51 *	389.15 ± 145.90 **	506.14 ± 156.10 ***	413.22 ± 189.60 **
Fett braun (mg) [*]	78.59 ± 3.14	106.93 ± 12.70 **	113.54 ± 18.19 **	123.58 ± 17.15 ***	114.34 ± 20.94 **
M. gastrocnemius (mg) [*]	713.22 ± 14.07	893.17 ± 69.25 ***	835.25 ± 87.07 *	906.99 ± 79.34 ***	750.94 ± 65.17
M. soleus (mg) [ns]	69.73 ± 1.43	74.42 ± 5.31	76.43 ± 4.61	80.64 ± 5.61	72.85 ± 3.69
M. EDL (mg) [**]	63.66 ± 1.48	75.51 ± 5.61 **	73.81 ± 6.70 *	85.26 ± 6.80 ***	68.44 ± 5.78
M. tibialis (mg) [**]	262.49 ± 6.10	320.76 ± 26.92 **	311.38 ± 29.00 *	347.05 ± 29.46 ***	280.68 ± 22.04

p < 0.001: *** p < 0.01: ** p < 0.05: * p > 0.05: nicht signifikant (ns)

[*] = ANOVA

[#] = Kruskal-Wallis-Test

* = t-Test vs. Placebo T # = Mann-Whitney-Test vs. Placebo T;

entsprechend gilt:

^a = vs. Allo 4mg T

^b = vs. Allo 40mg T

3.3.5 „Quality of life“

Die Behandlungsgruppen Allopurinol 4mg, Allopurinol 40mg und Oxypurinol 4mg wiesen eine signifikant höhere mittlere Futtermaufnahme an Tag 10 auf als die Placebo-Gruppe. Die Oxypurinol 40mg-Gruppe zeigte keinen signifikanten Unterschied zur Placebo-Gruppe. Alle behandelten Gruppen wiesen eine höhere Futtermaufnahme an Tag 10 auf als die Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.13). Alle behandelten

Gruppen zeigten einen signifikant geringeren Rückgang an spontaner Bewegungsaktivität als die Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.14 und Tabelle 3.8).

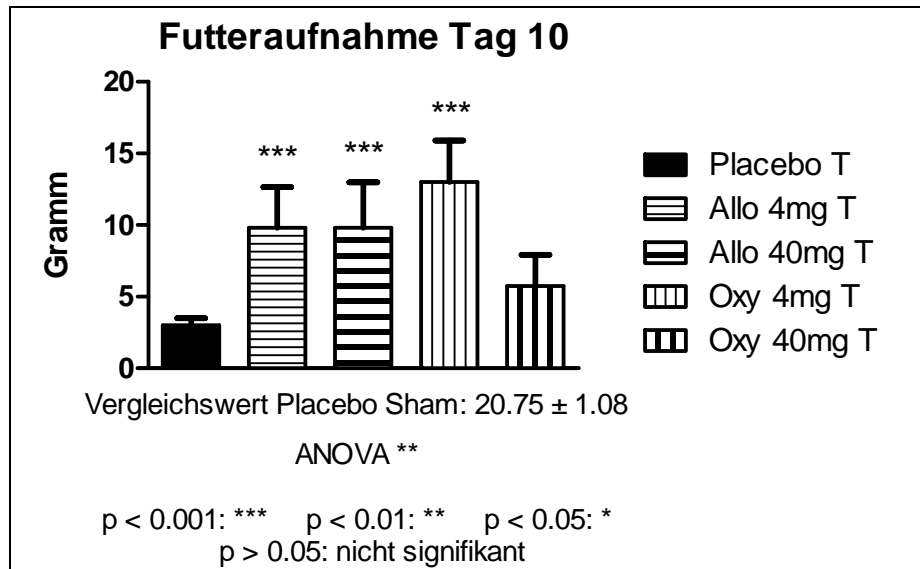


Abb. 3.13 Futteraufnahme an Tag 10
 Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Allo/Oxy 4mg T: n=11, Allo/Oxy 40mg T: n=12)

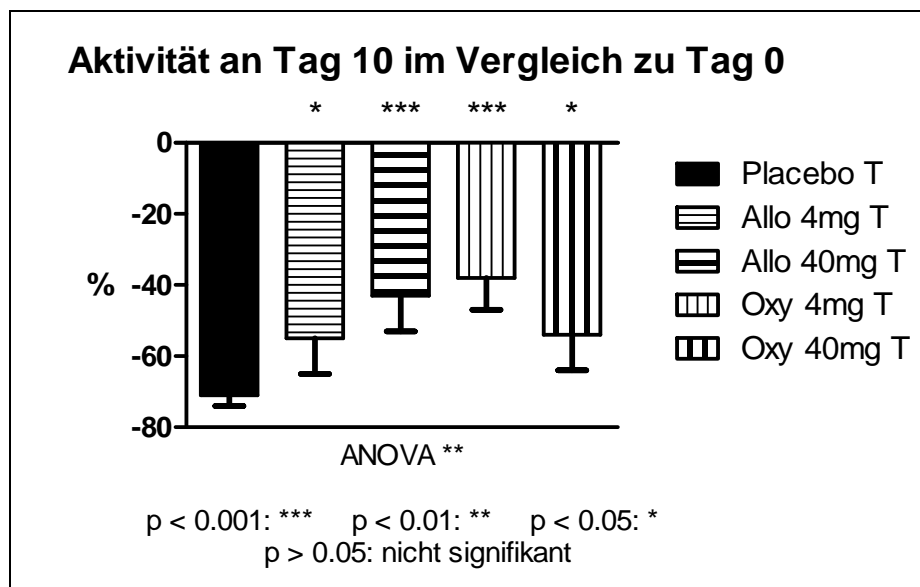


Abb. 3.14 Mittlerer Rückgang der spontanen Aktivität an Tag 10 des Versuchsprotokolls, verglichen mit der spontanen Aktivität vor Tumorinokulation. Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Allo/Oxy 4mg T: n=11, Allo/Oxy 40mg T: n=12)

3.3.6 Echokardiographie

Ejection Fraction und Fractional Shortening zeigten an Tag 0 keine Signifikanzen, an Tag 11 wiesen alle Behandlungsgruppen für beide Parameter signifikant höhere Werte auf als die Placebo-Gruppe. Das Herzminutenvolumen (CO) von Allopurinol 4mg an Tag 0 war signifikant größer als die Werte der Placebo-Gruppe und beider Dosierungen von Oxypurinol. An Tag 11 zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Jedoch zeigten alle Behandlungsgruppen ein größeres Herzminutenvolumen als die Placebo-Gruppe. Die linksventrikuläre Masse aller Behandlungsgruppen war an Tag 0 größer als die der Placebo-Gruppe, bei Allopurinol 4mg und beiden Oxypurinol-Dosierungen war dies signifikant. Alle Gruppen zeigten einen Rückgang der Masse des linken Ventrikels, jedoch starke Unterschiede in der Intensität dieses Rückgangs. Dieser war bei den hoch dosierten Gruppen und bei der Placebo-Gruppe am deutlichsten, während er bei Allopurinol und Oxypurinol in der 4mg-Dosierung weniger stark ausgeprägt war. So zeigten an Tag 11 die Gruppen Allopurinol 4mg, Oxypurinol 4mg und auch Allopurinol 40mg signifikant größere Werte für LV mass auf als die Placebo-Gruppe. Oxypurinol 40mg wies keinen signifikanten Unterschied zu dieser auf, zeigte jedoch einen signifikant niedrigeren Wert als Allopurinol 4mg. Auch Allopurinol 40mg wies einen signifikant niedrigeren Wert auf als Allopurinol in der niedrigen Dosierung.

Die Parameter MV E/A und intraventrikulärer Durchmesser des linken Ventrikels in Systole wie auch Diastole (LVESD und LVEDD) zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen und der Placebo-Gruppe, ebenso innerhalb der Behandlungsgruppen. Der end-systolische Durchmesser aller Behandlungsgruppen war geringer als bei der Placebo-Gruppe. Die end-diastolischen Durchmesser der niedrig dosierten Gruppen waren größer, die der hoch dosierten Gruppen kleiner als bei der Placebo-Gruppe.

Die Wandstärke des interventrikulären Septums wies an Tag 0 in der Systole wie auch Diastole keine signifikanten Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen auf. An Tag 11 zeigten alle Behandlungsgruppen eine signifikant größere systolische Wandstärke als die Placebo-Gruppe. In der Diastole wiesen alle Behandlungsgruppen größere Wandstärken auf, statistische Signifikanz im Vergleich zur Placebo-Gruppe erreichten hierbei die Gruppen Allopurinol 4mg und Oxypurinol 40mg.

Tabelle 3.9 Monotherapie Tumor (T)-Versuch: Echokardiographische Parameter

Parameter [Signifikanz]		Placebo T (n=30)	Allo 4mg T (n=11)	Allo 40mg T (n=10)	Oxy 4mg T (n=11)	Oxy 40mg T (n=12)
EF (%)	Tag 0 [ns]	74.74 ± 1.47	75.77 ± 2.12	75.25 ± 2.81	69.48 ± 2.34	70.46 ± 1.88
	Tag 11 [#]	48.94 ± 2.77	61.41 ± 4.80 #	62.33 ± 3.94 #	61.44 ± 3.94 #	64.27 ± 5.00 ##
FS (%)	Tag 0 [ns]	49.17 ± 1.16	46.42 ± 2.53	53.35 ± 2.47	49.23 ± 1.44	51.88 ± 2.38
	Tag 11 [###]	28.13 ± 2.23	37.89 ± 3.72 #	48.10 ± 5.28 ##	43.26 ± 3.37 ##	41.30 ± 5.22 #
CO (ml/ min)	Tag 0 [###]	83.00 ± 2.93	95.79 ± 2.83 ###	80.78 ± 6.98	67.78 ± 6.02 ^{aa}	61.94 ± 6.51 ^{## aa}
	Tag 11 [ns]	32.75 ± 4.63	53.81 ± 12.92	49.74 ± 11.69	56.88 ± 10.91	45.33 ± 10.96
LV mass (mg)	Tag 0 [##]	527.13 ± 12.32	595.43 ± 12.93 ##	608.76 ± 24.80	587.53 ± 24.31 #	558.97 ± 27.99 ##
	Tag 11 [***]	401.74 ± 10.88	578.20 ± 41.24 ***	464.95 ± 29.52 * ^a	485.52 ± 35.43 **	417.67 ± 32.30 ^{aa}
MV E/A	Tag 0 [ns]	1.55 ± 0.05	1.35 ± 0.05	1.42 ± 0.07	1.67 ± 0.08	1.65 ± 0.14
	Tag 11 [ns]	1.58 ± 0.31	1.46 ± 0.11	1.44 ± 0.11	1.42 ± 0.12	1.38 ± 0.12
LV ESD (mm)	Tag 0 [ns]	3.17 ± 0.09	3.52 ± 0.21	3.01 ± 0.20	3.27 ± 0.09	3.00 ± 0.17
	Tag 11 [ns]	3.94 ± 0.13	3.66 ± 0.28	2.70 ± 0.31	3.18 ± 0.18	2.91 ± 0.24
LV EDD (mm)	Tag 0 [ns]	6.22 ± 0.08	6.52 ± 0.12	6.42 ± 0.18	6.44 ± 0.10	6.22 ± 0.09
	Tag 11 [ns]	5.48 ± 0.09	5.93 ± 0.34	5.23 ± 0.35	5.68 ± 0.28	5.09 ± 0.31
IVS sys (mm)	Tag 0 [ns]	2.75 ± 0.05	2.81 ± 0.11	2.95 ± 0.12	2.86 ± 0.06	2.71 ± 0.12
	Tag 11 [###]	2.20 ± 0.07	2.83 ± 0.15 ##	2.88 ± 0.14 ###	2.69 ± 0.12 ##	2.67 ± 0.15 ##
IVS dia (mm)	Tag 0 [ns]	1.57 ± 0.03	1.60 ± 0.06	1.63 ± 0.09	1.54 ± 0.09	1.43 ± 0.06
	Tag 11 [#]	1.52 ± 0.05	1.81 ± 0.09 ##	1.61 ± 0.08	1.64 ± 0.06	1.74 ± 0.09 #
LV PW sys (mm)	Tag 0 [##]	2.78 ± 0.05	2.84 ± 0.11	3.19 ± 0.09 ^{## ab}	2.96 ± 0.07	3.15 ± 0.11 ##
	Tag 11 [###]	2.11 ± 0.07	2.53 ± 0.16 ##	2.99 ± 0.20 ###	2.61 ± 0.12 ###	2.65 ± 0.17 ##
LV PW dia (mm)	Tag 0 [#]	1.75 ± 0.05	1.84 ± 0.06	1.92 ± 0.12 #	1.91 ± 0.06 #	2.02 ± 0.11 #
	Tag 11 [#]	1.63 ± 0.04	1.89 ± 0.08 #	2.02 ± 0.11 ##	1.79 ± 0.09	1.76 ± 0.09

p < 0.001: *** p < 0.01: ** p < 0.05: * p > 0.05: nicht signifikant (ns)

[*] = ANOVA

[#] = Kruskal-Wallis-Test

* = t-Test vs. Placebo T # = Mann-Whitney-Test vs. Placebo T

entsprechend gilt:

^a = vs. Allo 4mg T

^b = vs. Oxy 4mg T

3 Ergebnisse

Bei der systolischen Wandstärke der linksventrikulären Hinterwand zeigten die Behandlungsgruppen Allopurinol 40mg und Oxypurinol 40mg an Tag 0 signifikant höhere Werte als die Placebo-Gruppe. Im Fall von Allopurinol 40mg galt dies auch im Vergleich zu beiden niedrig dosierten Gruppen. An Tag 11 wiesen alle Behandlungsgruppen signifikant höhere Werte für diesen Parameter auf als die Placebo-Gruppe. Signifikanzen zwischen den Behandlungsgruppen bestanden hierbei nicht.

In der Diastole zeigten die Gruppe Allopurinol 40mg und beide Oxypurinol-Dosierungen an Tag 0 signifikant größere Wandstärken auf als die Placebo-Gruppe. An Tag 11 wiesen alle Behandlungsgruppen höhere Werte auf als die Placebo-Gruppe, statistische Signifikanz erreichte dies bei beiden Allopurinol-Dosierungen.

Alle angegebenen Parameter siehe Tabelle 3.9. Die n-Zahlen in dieser Tabelle geben die Anzahl der zu diesem Zeitpunkt vorhandenen Tiere wieder.

3.4 Kombinationstherapie Tumor-Versuch

Im nachfolgenden Abschnitt werden die Auswirkungen der kombinierten Gabe von Bisoprolol und Oxypurinol mit 25% und 75% der effektiven Dosierungen (s. Kap. 2.4) im Vergleich mit der Gabe von Placebo und der monotherapeutischen Gabe der vorgenannten Stoffe dargestellt. Die effektive Dosis für Bisoprolol wurde mit 5mg/kg/d, die für Oxypurinol mit 4mg/kg/d festgelegt.

3.4.1 Tumorwachstum

Bei der mittleren Tumormenge zum Tötungszeitpunkt zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Placebo-Gruppe und den jeweiligen Behandlungsgruppen. Alle Behandlungsgruppen wiesen zum Tötungszeitpunkt eine geringere Tumormenge auf als die Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.15). Alle Behandlungsgruppen zeigten eine höhere Gesamtzahl an Tumorzellen als die Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.16).

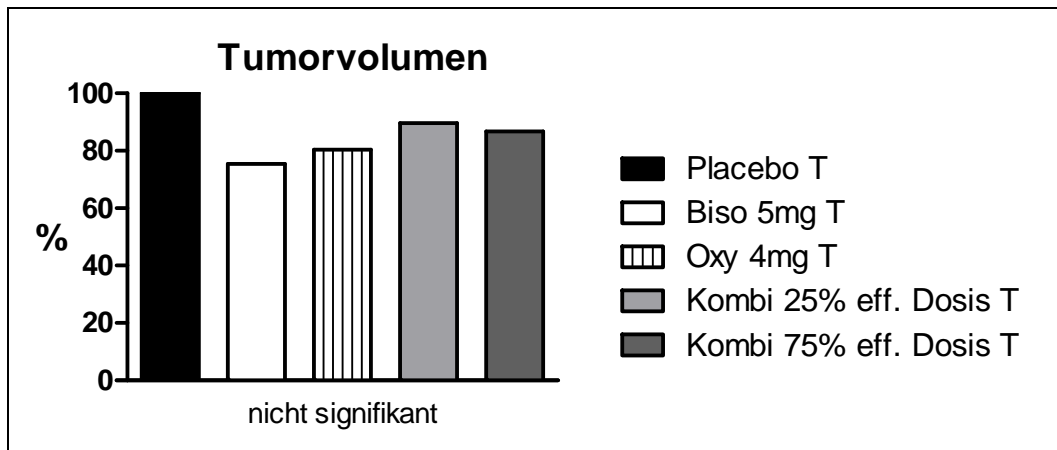


Abb. 3.15 Tumorflüssigkeit in der Bauchhöhle
Darstellung: Mittelwerte, relativ zur Gruppe Placebo Tumor (T).
(Placebo T: n=37, Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11)

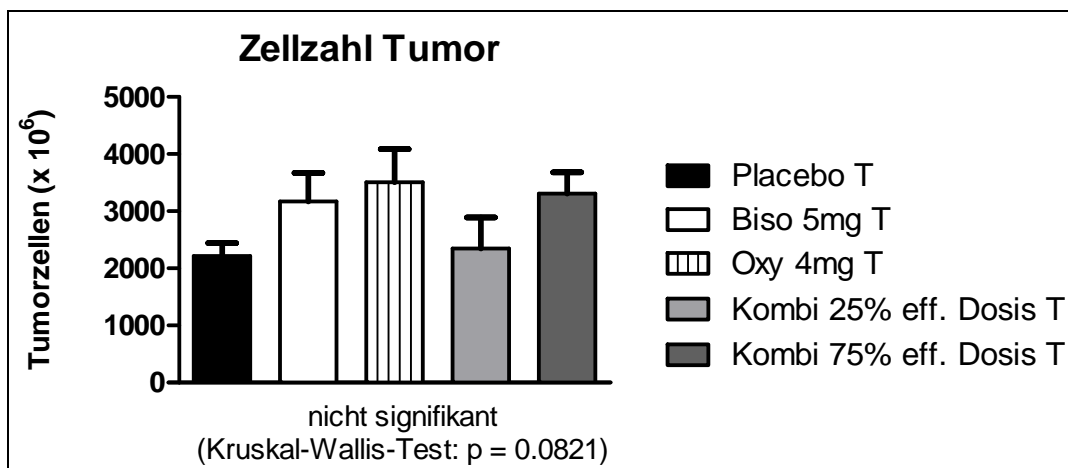


Abb. 3.16 Mittlere Zellzahl in der Tumorflüssigkeit
Dargestellte Signifikanzen: Mann-Whitney-Test vs. Placebo T
(Placebo T: n=37, Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11)

3.4.2 Überleben

Im Log-rank-Test zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Überlebenswahrscheinlichkeiten (s. Abb. 3.17). Die monotherapeutischen Behandlungsgruppen zeigen eine im direkten Vergleich mit der Placebo-Gruppe jeweils signifikant unterschiedliche Überlebenskurve mit höherer Überlebenswahrscheinlichkeit (s. Tab. 3.10).

3 Ergebnisse

Tabelle 3.10 Überlebensanalyse: Kombinationstherapie Tumor (T) vs. Placebo T

	Biso 5mg T	Oxy 4mg T	Kombi 25% T	Kombi 75% T
hazard ratio	0.2736	0.2738	0.6322	0.5795
95% CI	0.1167 – 0.6416	0.1267 – 0.5918	0.2459 – 1.625	0.2562 – 1.311
p (Log-rank)	0.0029 **	0.0010 ***	0.3411	0.1901

Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11, Placebo T: n=37

CI= confidence interval

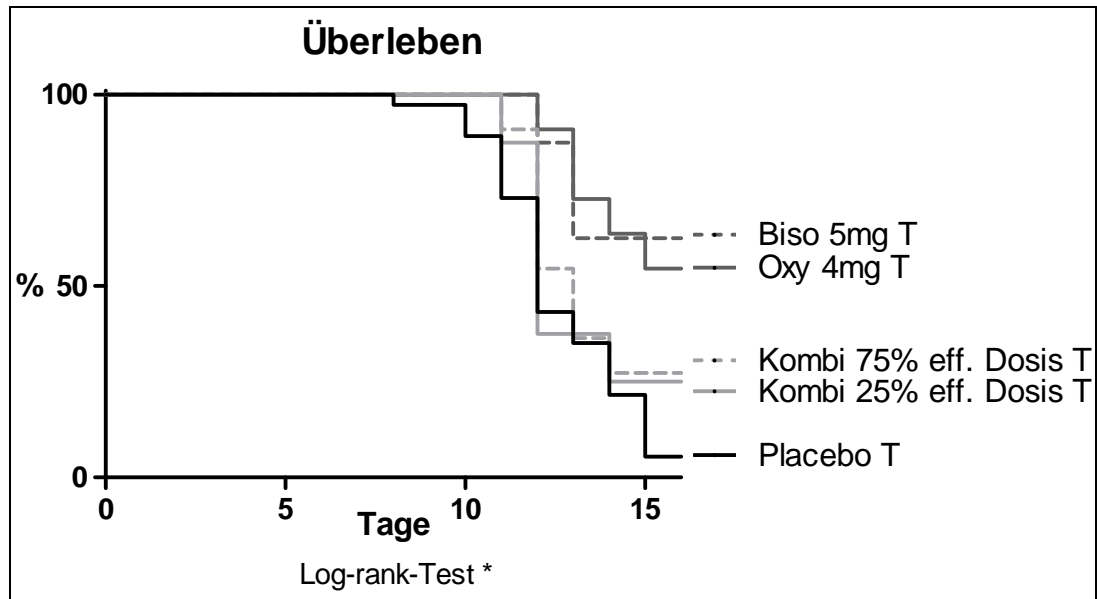


Abb. 3.17 Kaplan-Meier-Darstellung der Mortalität
(Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11, Placebo T: n=37)
Log-rank-Test: p = 0.0134

Für die Gruppe Bisoprolol 5mg betrug die Überlebenswahrscheinlichkeit zum Ende des Versuchs 62.5% (p=0.0029), für die Behandlungsgruppe Oxypurinol 4mg 54.5% (p=0.0010), für die Kombination 75%-Gruppe 27.3% (p=0.1901) und für die Gruppe Kombination 25% betrug sie 25% (p=0.3411). Die Überlebenswahrscheinlichkeit der Placebo-Gruppe betrug 5.4%. Die Hazard Ratio der Monotherapie-Gruppen lag unter 0.3, das 95%-Konfidenz-Intervall unter 0.65. Die Kombinations-Gruppen wiesen eine Hazard Ratio um 0.6 auf, die Spannweite des 95%-Konfidenz-Intervalls überstieg den Wert von 1 bei beiden Dosierungen deutlich (s. Tab. 3.10).

3.4.3 Gewicht und Körperzusammensetzung

Das mittlere Gesamtgewicht an Tag 0 beider Kombinationsgruppen war signifikant größer als das der Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.18 und Tabelle 3.11). Das Gesamtgewicht der Gruppen Oxypurinol 4mg und Kombination 75% war auch signifikant größer als das der Gruppe Bisoprolol 5mg (nicht dargestellt). Alle Behandlungsgruppen wiesen zum Tötungszeitpunkt ein signifikant höheres mittleres Körpergewicht auf als die Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.19).

Die Monotherapie-Gruppen und die Gruppe Kombination 75% unterschieden sich im mittleren Gewichtsverlust über den Versuchszeitraum signifikant von der Placebo-Gruppe. Die Kombination 25%-Gruppe zeigte keine signifikante Abweichung von der Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.20). Alle Behandlungsgruppen wiesen einen geringeren mittleren Gewichtsverlust über den Versuchszeitraum auf als die Placebo-Gruppe. Alle Behandlungsgruppen zeigten einen signifikant geringeren mittleren Gewichtsverlust pro Tag im Vergleich zur Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.21).

Bei der fettfreien Masse zeigten beide Kombinationsgruppen signifikant höhere Ausgangswerte als die Placebo-Gruppe und die Gruppe Bisoprolol 5mg (s. Tabelle 3.11). Am Versuchsende wiesen alle Behandlungsgruppen signifikant höhere Werte für fettfreie Masse auf als die Placebo-Gruppe. Die mittleren Verluste an fettfreier Masse der Monotherapie-Gruppen und der Gruppe Kombination 75% unterschieden sich signifikant von dem der Placebo-Gruppe. Der mittlere Verlust an fettfreier Masse der Behandlungsgruppe Kombination 25% zeigte keinen signifikanten Unterschied zur Placebo-Gruppe. Alle Behandlungsgruppen wiesen einen geringeren mittleren Verlust an fettfreier Masse auf als die Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.22). Der tägliche Verlust an fettfreier Masse war bei den Monotherapie-Gruppen und der Gruppe Kombination 75% signifikant geringer als bei der mit Placebo behandelten Gruppe. Zwischen der Gruppe Kombination 25% und der Placebo-Gruppe bestanden, wie auch innerhalb der einzelnen Behandlungsgruppen, keine signifikanten Unterschiede (s. Abb. 3.23).

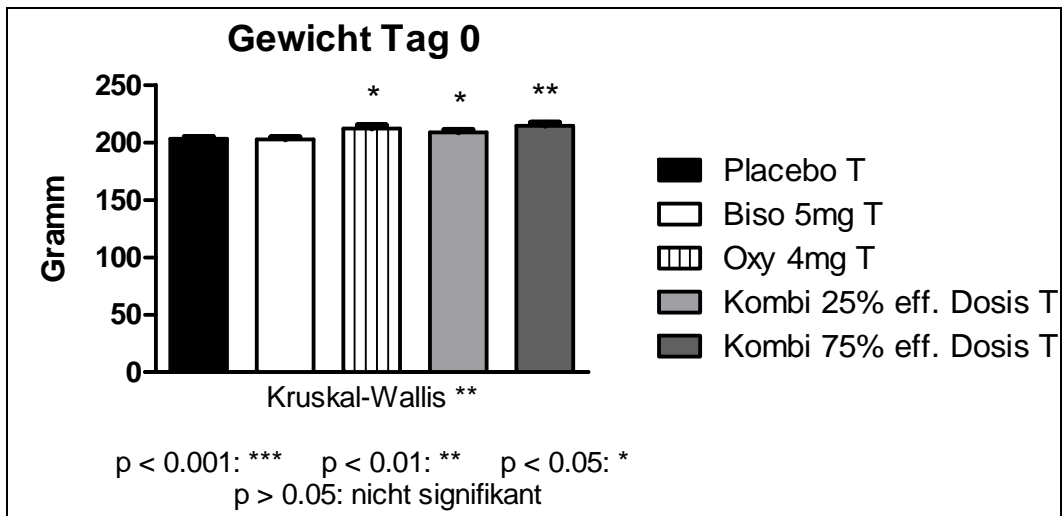


Abb. 3.18 Mittleres Körpergewicht an Tag 0
 Dargestellte Signifikanzen: Mann-Whitney-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11)

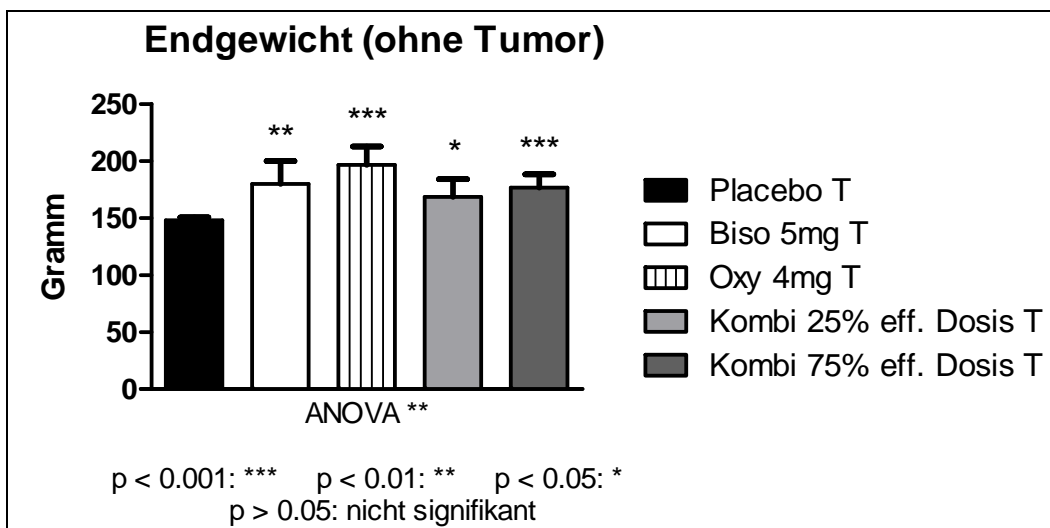


Abb. 3.19 Mittleres Körpergewicht ohne Tumor zum Tötungszeitpunkt
 Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11)

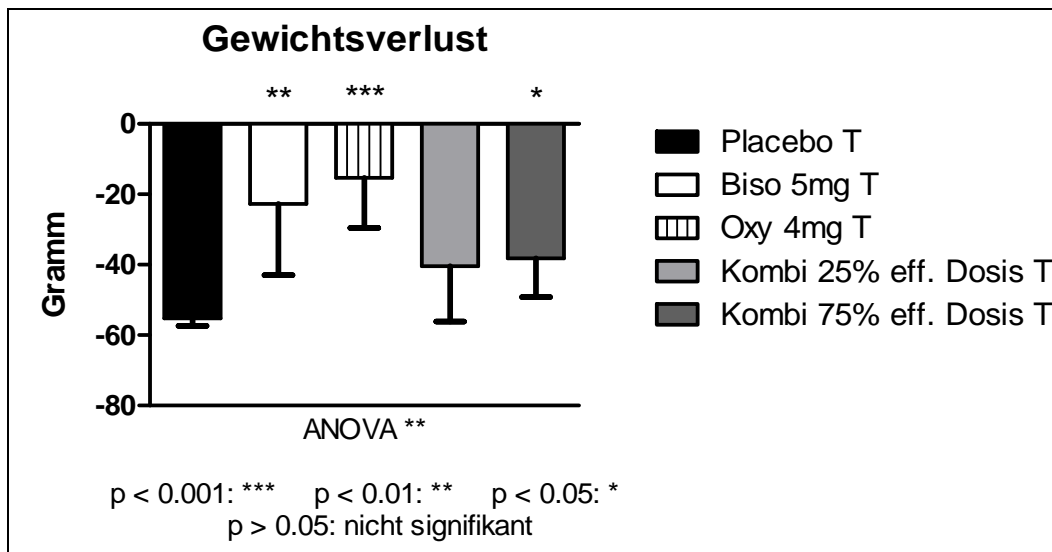


Abb. 3.20 Mittlerer Gewichtsverlust über den Versuchszeitraum
 Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11)

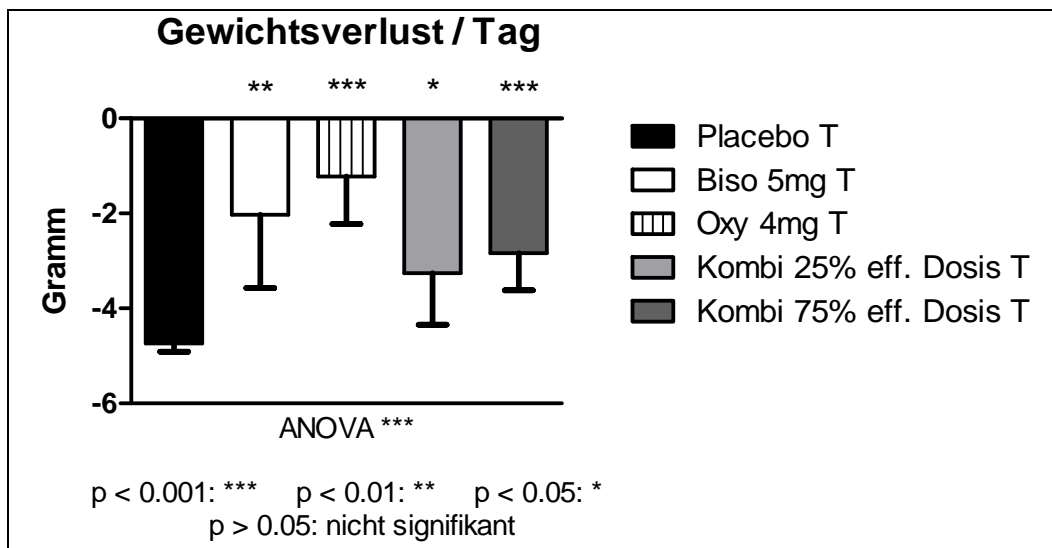


Abb. 3.21 Mittlerer Gewichtsverlust pro Tag
 Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11)

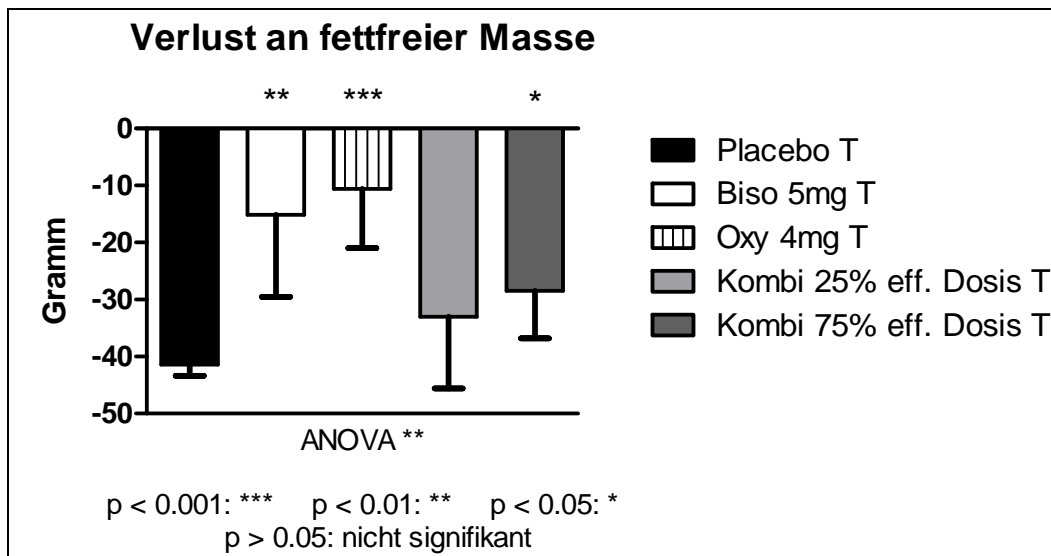


Abb. 3.22 Mittlerer Verlust an fettfreier Masse über den Versuchszeitraum
 Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11)

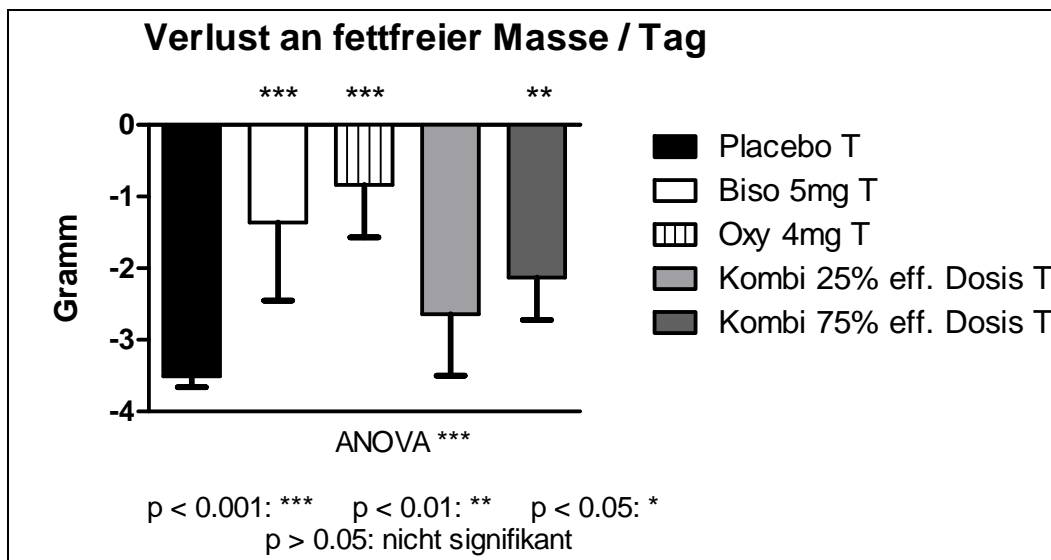


Abb. 3.23 Mittlerer Verlust an fettfreier Masse pro Tag
 Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11)

An Tag 0 zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Fettmasse zwischen den einzelnen Gruppen. Zu Versuchsende zeigten die Monotherapie-Gruppen und die Gruppe Kombination 75% signifikant höhere Werte für Fettmasse als die Placebo-Gruppe, die Gruppe Kombination 25% unterschied sich nicht signifikant von dieser.

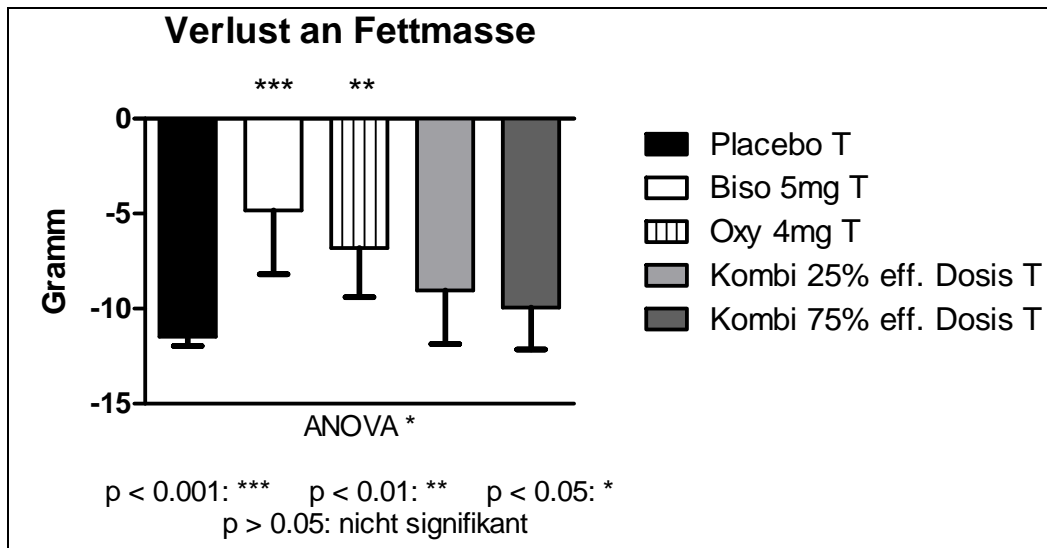


Abb. 3.24 Mittlerer Verlust an Fettmasse über den Versuchszeitraum
 Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11)

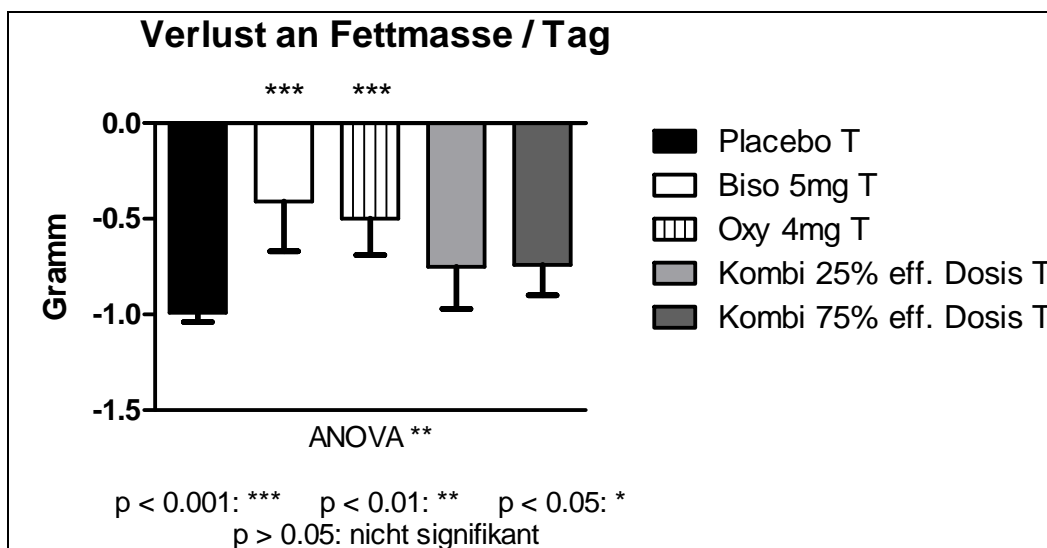


Abb. 3.25 Mittlerer Verlust an Fettmasse pro Tag
 Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11)

3 Ergebnisse

Tabelle 3.11 Kombinationstherapie Tumor (T): Gewicht, fettfreie Masse, Fettmasse

Parameter [Signifikanz]	Placebo T (n=37)	Biso 5mg T (n=8)	Oxy 4mg T (n=11)	Kombi 25% eff. Dosis T (n=8)	Kombi 75% eff. Dosis T (n=11)
Gewicht Tag 0 (g) [##]	203.22 ± 1.56	202.64 ± 1.94	212.00 ± 3.07 # a	208.88 ± 2.03 #	214.64 ± 2.75 ## a
Endgewicht (g) [**]	147.95 ± 2.56	179.88 ± 19.94 **	196.64 ± 15.95 ***	168.50 ± 15.41 *	176.45 ± 11.82 ***
entspricht (% von Tag 0)	73%	89%	93%	81%	82%
Δ Gewicht (g/d) [***]	-4.74 ± 0.17	-2.03 ± 1.54 **	-1.22 ± 1.00 ***	-3.26 ± 1.08 *	-2.84 ± 0.78 ***
Fettfreie Masse Tag 0 (g) [**]	157.17 ± 1.25	155.48 ± 0.82	161.65 ± 2.63	164.74 ± 1.55 ** aaa	165.40 ± 1.63 ** aaa
Fettfreie Masse Ende (g) [**]	115.67 ± 2.23	140.32 ± 14.23 **	151.06 ± 12.06 ***	131.73 ± 11.77 *	136.91 ± 8.75 **
entspricht (% von Tag 0)	74%	90%	94%	80%	83%
Δ Fettfreie Masse (g/d) [***]	-3.51 ± 0.15	-1.36 ± 1.09 ***	-0.84 ± 0.73 ***	-2.64 ± 0.86	-2.13 ± 0.59 **
Fettmasse Tag 0 (g) [ns]	17.87 ± 0.47	16.99 ± 1.15	20.14 ± 1.05	17.76 ± 0.46	20.12 ± 0.88
Fettmasse Ende (g) [**]	6.34 ± 0.56	12.16 ± 3.26 ***	13.34 ± 2.71 ***	8.72 ± 2.84	10.17 ± 2.42 *
entspricht (% von Tag 0)	36%	72%	66%	50%	51%
Δ Fettmasse (g/d) [**]	-0.99 ± 0.05	-0.41 ± 0.26 **	-0.50 ± 0.19 ***	-0.75 ± 0.22	-0.74 ± 0.16

p < 0.001: *** p < 0.01: ** p < 0.05: * p > 0.05: nicht signifikant (ns)

[*] = ANOVA

[#] = Kruskal-Wallis-Test

* = vs. Placebo T

= Mann-Whitney-Test vs. Placebo T

entsprechend gilt:

^a = vs. Biso 5mg T

^b = vs. Kombi 25% eff. Dosis T

Die mittleren Verluste an Fettmasse zum Tötungszeitpunkt der Monotherapie-Gruppen unterschieden sich signifikant von dem der Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.24). Der entsprechende Wert der Kombinationsgruppen zeigte keinen signifikanten Unterschied zur Placebo-Gruppe. Alle Behandlungsgruppen wiesen einen geringeren mittleren Verlust an Fettmasse auf als die Placebo-Gruppe.

Der bei allen Behandlungsgruppen im Vergleich mit der Placebo-Gruppe geringere tägliche Verlust an Fettmasse erreichte bei den Monotherapie-Gruppen statistische Signifikanz (s. Abb. 3.25). Die mittleren Verluste an Fettmasse der Kombinations-

gruppen unterschieden sich nicht signifikant von dem der Placebo-Gruppe. Alle Behandlungsgruppen wiesen einen geringeren mittleren Verlust an Fettmasse pro Tag auf als die Placebo-Gruppe.

Eine Übersicht über die Daten für Gesamtgewicht, fettfreie Masse und Fettmasse bietet Tabelle 3.11.

3.4.4 Innere Organe, Fettgewebe und Skelettmuskulatur

Das Gewicht von Herz, Lunge, Leber und Niere zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen der Placebo-Gruppe und den Behandlungsgruppen. Das Organgewicht der Milz war bei den Monotherapie-Gruppen und der Gruppe Kombination 75% signifikant größer als bei der Placebo-Gruppe. Bezüglich des Gewichts der Nebenniere zeigte die Placebo-Gruppe keine signifikanten Unterschiede zu den Behandlungsgruppen. Innerhalb dieser wiesen die beiden Kombinationsgruppen jeweils signifikant größere Gewichte der Nebenniere auf als die Monotherapie-Gruppen. Letztgenannte Gruppen zeigten signifikant höhere Werte für das Gewicht des weißen (s. Abb. 3.27) und braunen Fettgewebes im Vergleich zur Placebo-Gruppe. Die Gruppe Kombination 75% wies ein signifikant schwereres weißes Fettgewebe, die Gruppe Kombination 25% ein signifikant schwereres braunes Fettgewebe als die Placebo-Gruppe auf.

Die Gruppen Oxypurinol 4mg und Kombination 75% wiesen für alle gemessenen Muskeln signifikant höhere Gewichte auf als die Placebo-Gruppe.

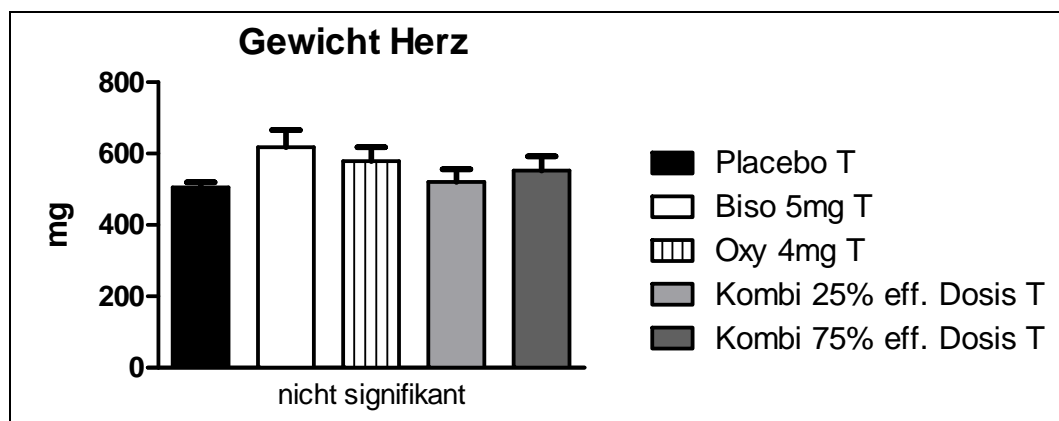


Abb. 3.26 Mittleres Herzgewicht
(Placebo T: n=37, Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11)

3 Ergebnisse

Zudem zeigten beide Gruppen ein signifikant höheres Gewicht des M. soleus als die Gruppe Kombination 25%. Die Gruppen Bisoprolol 5mg und Kombination 25% zeigten signifikant höhere Gewichte der Mm. gastrocnemius und tibialis, während die Mm. soleus und EDL bei diesen Behandlungsgruppen keine signifikanten Unterschiede zur Placebo-Gruppe aufwiesen. Alle angegebenen Parameter siehe Tabelle 3.12.

Tabelle 3.12 Kombinationstherapie Tumor (T): „quality of life“ und Organgewichte

Parameter [Signifikanz]	Placebo T (n=37)	Biso 5mg T (n=8)	Oxy 4mg T (n=11)	Kombi 25% eff. Dosis T (n=8)	Kombi 75% eff. Dosis T (n=11)
„quality of life“					
Futteraufnahme Tag 10 (g) [***]	3.00 ± 0.51	10.75 ± 3.07 ***	13.00 ± 2.90 ***	5.50 ± 2.62	7.18 ± 2.25 **
Δ Aktivität [#]	-0.71 ± 0.03	-0.42 ± 0.09 ##	-0.38 ± 0.09 ##	-0.66 ± 0.08 ^b	-0.57 ± 0.08
Organgewichte					
Herz (mg) [ns]	505.21 ± 14.00	618.44 ± 47.90	578.71 ± 39.80	520.61 ± 35.48	552.37 ± 39.66
Lunge (mg) [ns]	885.22 ± 29.57	976.30 ± 54.39	989.10 ± 58.58	916.63 ± 70.82	915.61 ± 45.62
Milz (mg) [***]	163.64 ± 10.01	416.56 ± 123.42 ***	359.64 ± 63.20 ***	219.99 ± 58.33	253.79 ± 49.66 **
Leber (mg) [ns]	6093.39 ± 227.81	7247.81 ± 829.46	7927.92 ± 656.71	6992.79 ± 732.83	7264.41 ± 512.95
Niere links (mg) [ns]	698.41 ± 16.58	751.10 ± 44.94	757.15 ± 50.36	755.09 ± 51.93	756.74 ± 4.37
Nebenniere links (mg) [*]	35.13 ± 1.77	27.73 ± 1.76	29.43 ± 1.20	37.28 ± 1.31 ^{aaa bbb}	35.93 ± 1.88 ^{aa bb}
Fett weiß (mg) [**]	86.38 ± 26.43	532.47 ± 209.90 ***	506.14 ± 156.10 ***	217.41 ± 163.90	312.48 ± 156.45 *
Fett braun (mg) [**]	78.59 ± 3.14	128.55 ± 26.56 ***	123.58 ± 17.15 ***	115.79 ± 25.51 **	92.45 ± 14.07
M. gastrocnemius (mg) [**]	713.22 ± 14.07	806.27 ± 59.99 *	906.99 ± 79.34 ***	818.09 ± 81.73 *	881.07 ± 49.70 ***
M. soleus (mg) [*]	69.73 ± 1.43	74.31 ± 6.45	80.64 ± 5.61 **	63.74 ± 4.84 ^b	79.32 ± 4.13 ** ^c
M. EDL (mg) [**]	63.66 ± 1.48	72.81 ± 7.81	85.26 ± 6.80 ***	70.63 ± 6.52	76.44 ± 4.37 ***
M. tibialis (mg) [**]	262.49 ± 6.10	309.27 ± 34.03 *	347.05 ± 29.46 ***	297.72 ± 24.53 *	321.05 ± 17.13 ***

p < 0.001: *** p < 0.01: ** p < 0.05: * p > 0.05: nicht signifikant (ns)

[*] = ANOVA

[#] = Kruskal-Wallis-Test

* = t-Test vs. Placebo T

= Mann-Whitney-Test vs. Placebo T

entsprechend gilt:

^a = vs. Biso 5mg T

^b = vs. Oxy 4mg T

^c = vs. Kombi 25% eff. Dosis T

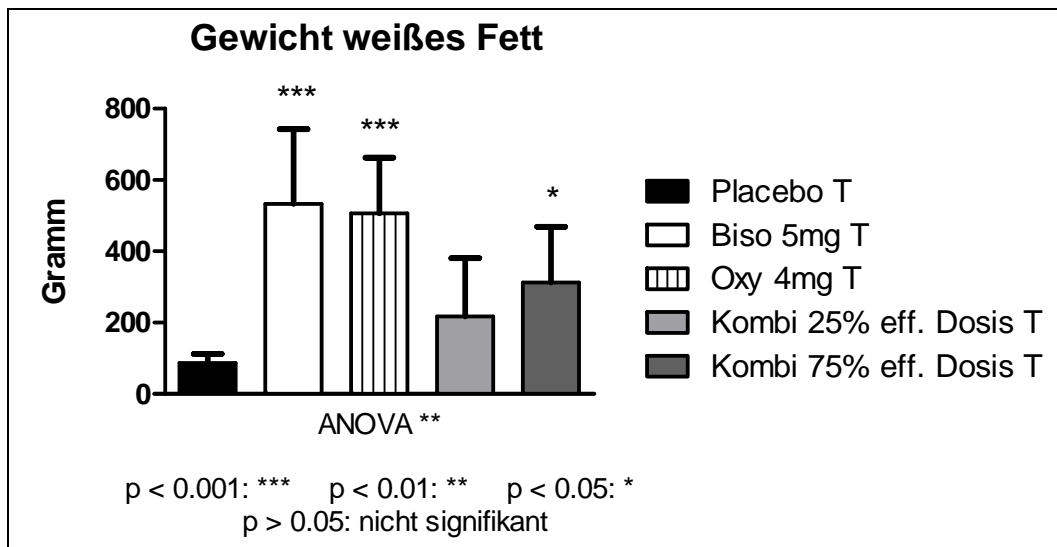


Abb. 3.27 Mittleres Gewicht des retroperitonealen weißen Fettgewebes
 Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11)

3.4.5 „Quality of life“

Bei der Futteraufnahme zeigten alle Behandlungsgruppen höhere Werte als die Placebo-Gruppe, dies erreichte bei den Gruppen Bisoprolol 5mg, Oxypurinol 4mg und Kombination 75% statistische Signifikanz (s. Abb. 3.28).

Die spontane Bewegungsaktivität aller Behandlungsgruppen ging nicht so stark zurück wie die der Placebo-Gruppe, hierbei erreichten die Werte der Monotherapie-Gruppen statistische Signifikanz. Der ebenfalls im Vergleich zur Placebo-Gruppe geringere mittlere Rückgang der Spontanaktivität der beiden Kombinationsgruppen erreichte keine statistische Signifikanz (s. Abb. 3.29). Die Gruppe Oxypurinol 4mg zeigte desweiteren einen signifikant geringeren Rückgang der Bewegungsaktivität als die Gruppe Kombination 25% (s. Tabelle 3.12).

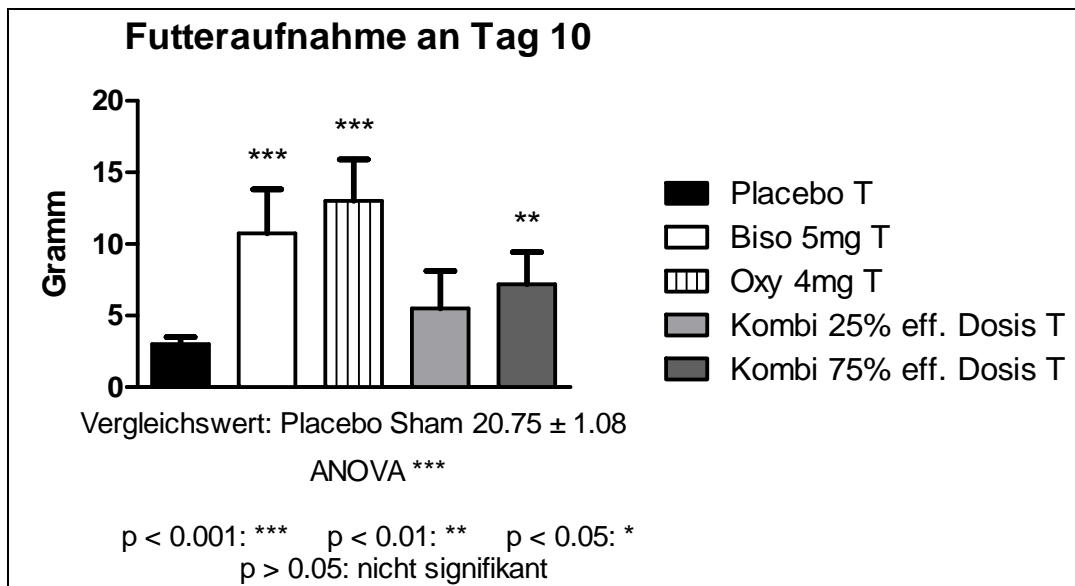


Abb. 3.28 Futteraufnahme an Tag 10
 Dargestellte Signifikanzen: t-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11)

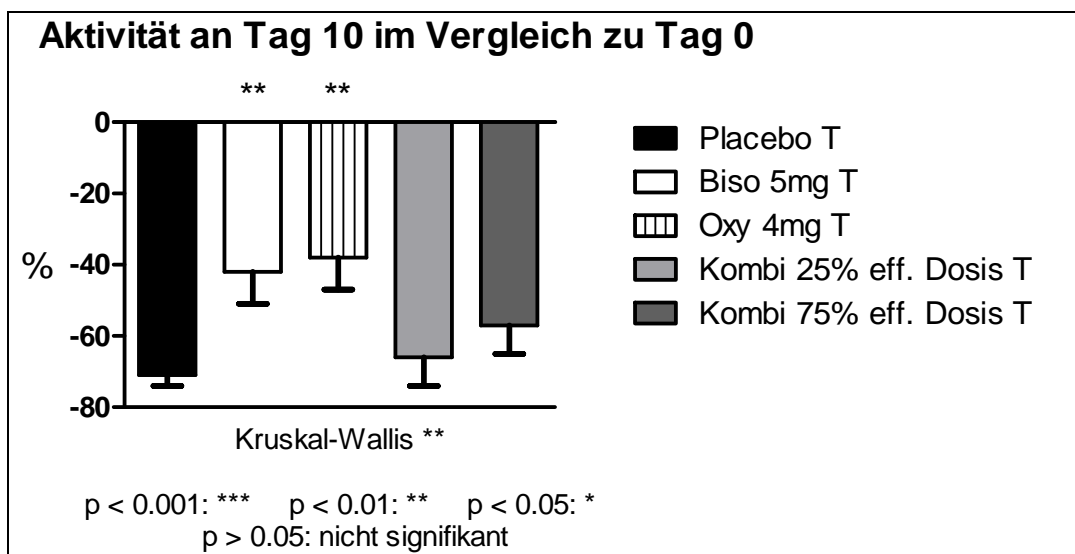


Abb. 3.29 Mittlerer Rückgang der spontanen Aktivität an Tag 10 des
 Versuchsprotokolls, verglichen mit der spontanen Aktivität vor
 Tumorinokulation.
 Dargestellte Signifikanzen: Mann-Whitney-Test vs. Placebo T
 (Placebo T: n=37, Biso/Kombi25 T: n=8, Oxy/Kombi75 T: n=11)

3.4.6 Echokardiographie

In der echokardiographischen Untersuchung (s. Tabelle 3.13) zeigten sich für die Ejektionsfraktion an Tag 0 signifikante Unterschiede zwischen der Placebo-Gruppe, der Gruppe Bisoprolol 5mg und der Gruppe Kombination 25% einerseits und der Behandlungsgruppe Oxypurinol 4mg andererseits. Letztere wies eine geringere Ejektionsfraktion auf als die vorgenannten Gruppen. An Tag 11 waren für diesen Parameter keine signifikanten Unterschiede zu verzeichnen.

Für die Herzauswurfleistung (CO) zeigte sich ein ähnliches Bild. Hier wies die Gruppe Oxypurinol 4mg einen signifikant niedrigeren Wert auf als alle anderen Behandlungsgruppen, nicht jedoch im Vergleich zur Placebo-Gruppe. Bisoprolol 5mg wies einen signifikant niedrigeren Wert für CO auf als die Placebo-Gruppe. An Tag 11 waren keine Signifikanzen zu verzeichnen.

Oxypurinol 4mg wies an Tag 0 eine größere linksventrikuläre Masse auf als die Placebo-Gruppe und als die Gruppe Bisoprolol 5mg, die Gruppe Kombination 25% wies ebenfalls einen höheren Wert für „LV mass“ auf als die Bisoprolol-Gruppe. An Tag 11 zeigten die Monotherapie-Gruppen hier höhere Werte als die Placebo-Gruppe.

Für „MV E/A“ zeigten sich weder an Tag 0 noch an Tag 11 signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen. Gleiches galt für den intraventrikulären Durchmesser des linken Ventrikels in der Diastole. In der Systole zeigten sich hier an Tag 0 keine Signifikanzen, an Tag 11 wiesen die Placebo-Gruppe, die Gruppe Bisoprolol 5mg und die Gruppe Kombination 75% signifikant größere Innendurchmesser auf als die mit Oxypurinol behandelte Gruppe.

Die Wandstärke des Septums wies an Tag 0 in Diastole und Systole keine Signifikanzen auf. An Tag 11 waren in der Diastole ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zu verzeichnen, in der Systole zeigte die Gruppe Oxypurinol 4mg eine signifikant größere Wandstärke im Vergleich mit der Gruppe Kombination 75%.

Bei der Stärke der Hinterwand des linken Ventrikels zeigten die Behandlungsgruppen Oxypurinol 4mg und Kombination 25% signifikant höhere systolische Werte an Tag 0 als die Gruppe Bisoprolol 5mg, im Fall der Gruppe Kombination 25% galt dies auch für den Vergleich mit der Placebo-Gruppe. An Tag 11 wies die mit Oxypurinol behandelte Gruppe eine signifikant stärkere Hinterwand auf als die Placebo-Gruppe und als beide Kombinationsgruppen.

3 Ergebnisse

Tabelle 3.13 Kombinationstherapie Tumor (T): Echokardiographische Parameter

Parameter [Signifikanz]		Placebo T (n=30)	Biso 5mg T (n=7)	Oxy 4mg T (n=11)	Kombi 25% eff. Dosis T (n=8)	Kombi 75% eff. Dosis T (n=11)
EF (%)	Tag 0 [#]	74.74 ± 1.47	79.95 ± 1.32	69.48 ± 2.34 # aa	80.64 ± 1.90 bb	74.27 ± 2.55
	Tag 11 [ns]	48.94 ± 2.77	54.77 ± 7.06	61.44 ± 3.94	56.34 ± 4.25	59.54 ± 4.01
FS (%)	Tag 0 [ns]	49.17 ± 1.16	49.95 ± 2.80	49.23 ± 1.44	51.57 ± 2.78	46.81 ± 2.81
	Tag 11 [#]	28.13 ± 2.23	27.71 ± 5.37	43.26 ± 3.37 ## a	32.73 ± 2.64	33.08 ± 2.46
CO (ml/min)	Tag 0 [#]	83.00 ± 2.93	78.74 ± 2.91 #	67.78 ± 6.02 aa	87.16 ± 5.64 b	85.03 ± 2.92 b
	Tag 11 [ns]	32.75 ± 4.63	30.94 ± 3.62	56.88 ± 10.91	28.07 ± 7.36	36.41 ± 6.40
LV mass (mg)	Tag 0 [#]	527.13 ± 12.32	472.70 ± 37.13	587.53 ± 24.31 # a	580.56 ± 33.82 a	527.58 ± 16.86
	Tag 11 [**]	401.74 ± 10.88	487.00 ± 35.24 **	485.52 ± 35.42 **	436.98 ± 15.90	433.79 ± 18.12
MV E/A	Tag 0 [ns]	1.55 ± 0.05	1.54 ± 0.09	1.67 ± 0.08	1.35 ± 0.10	1.48 ± 0.09
	Tag 11 [ns]	1.58 ± 0.31	1.82 ± 0.22	1.42 ± 0.12	1.31 ± 0.11	1.36 ± 0.05
LV ESD (mm)	Tag 0 [ns]	3.17 ± 0.09	3.27 ± 0.25	3.27 ± 0.09	3.09 ± 0.18	3.55 ± 0.23
	Tag 11 [#]	3.94 ± 0.13	4.06 ± 0.18	3.18 ± 0.18 ## aa	3.81 ± 0.22	4.13 ± 0.23 b
LV EDD (mm)	Tag 0 [ns]	6.22 ± 0.08	6.50 ± 0.21	6.44 ± 0.10	6.38 ± 0.06	6.64 ± 0.12
	Tag 11 [ns]	5.48 ± 0.09	5.85 ± 0.54	5.68 ± 0.28	5.65 ± 0.20	6.16 ± 0.25
IVS sys (mm)	Tag 0 [ns]	2.75 ± 0.05	2.78 ± 0.15	2.86 ± 0.06	2.82 ± 0.17	2.70 ± 0.08
	Tag 11 [#]	2.20 ± 0.07	2.49 ± 0.15	2.69 ± 0.12 ##	2.41 ± 0.12	2.31 ± 0.10 b
IVS dia (mm)	Tag 0 [ns]	1.57 ± 0.03	1.45 ± 0.11	1.54 ± 0.09	1.67 ± 0.08	1.44 ± 0.05
	Tag 11 [ns]	1.52 ± 0.05	1.81 ± 0.21	1.64 ± 0.06	1.60 ± 0.07	1.44 ± 0.07
LV PW sys (mm)	Tag 0 [#]	2.78 ± 0.05	2.67 ± 0.12	2.96 ± 0.07 a	3.08 ± 0.10 # a	2.75 ± 0.11
	Tag 11 [##]	2.11 ± 0.07	2.28 ± 0.13	2.61 ± 0.12 ###	2.15 ± 0.08 bb	2.11 ± 0.06 bb
LV PW dia (mm)	Tag 0 [#]	1.75 ± 0.05	1.47 ± 0.11 #	1.91 ± 0.06 # a	1.77 ± 0.08	1.65 ± 0.05 bb
	Tag 11 [ns]	1.63 ± 0.04	1.66 ± 0.19	1.79 ± 0.09	1.64 ± 0.08	1.49 ± 0.05

p < 0.01: **

p < 0.05: *

p > 0.05: nicht signifikant (ns)

[*] = ANOVA

[#] = Kruskal-Wallis-Test

* = vs. Placebo T

= Mann-Whitney-Test vs. Placebo T

entsprechend gilt:

a = vs. Biso 5mg T

b = vs. Oxy 4mg T

In der Diastole wies die Gruppe Oxypurinol 4mg an Tag 0 einen signifikant höheren Wert auf als die Placebo-Gruppe, die Gruppe Bisoprolol 5mg und die Gruppe Kombination 75%. Die Kontrolle zeigte eine gegenüber der Gruppe Bisoprolol 5mg signifikant größere Wandstärke. An Tag 11 waren keine Signifikanzen zwischen einzelnen Gruppen zu verzeichnen.

Alle angegebenen Parameter siehe Tabelle 3.13. Die in dieser Tabelle angegebenen n-Zahlen geben die Anzahl der zu diesem Zeitpunkt vorhandenen Tiere wieder.

4 Diskussion

Das Auftreten von Kachexie bei Tumorerkrankungen geht mit einer Erhöhung von Morbidität und Mortalität einher [10]. In der vorliegenden Studie an tumortragenden Ratten wurde der Effekt einer Gabe von Allopurinol und Oxypurinol auf die entstehende Tumorkachexie beobachtet. Dazu wurden die Entwicklung des Gewichts und der Körperzusammensetzung, die Überlebenschancen, die spontane Aktivität und Futteraufnahme, Organgewichte und echokardiographische Parameter untersucht. Sodann wurde die effektive Dosis der Medikation bestimmt und in Kombination mit Bisoprolol eingesetzt. Die Wirkung dieser kombinierten Behandlung wurde ebenso geprüft.

4.1 Placebo-Versuch

Der im Versuch verwendete Tumor, das Yoshida AH-130 Hepatom, ist geeignet, bei Ratten eine Kachexie zu induzieren. Sein Wachstum bewirkt einen raschen und fortschreitenden Gewichtsverlust sowie einen Abbau insbesondere der Skelettmuskulatur [242] und endet bei Transplantation von 10^8 Tumorzellen in 200g schwere Ratten nach 14-16 Tagen tödlich [243].

Die Entwicklung des Gesamtgewichts ist abhängig vom Ausgangsgewicht und von der inokulierten Tumormenge. Durchschnittlich etwa 100g schwere Ratten, denen 10^7 Tumorzellen intraperitoneal appliziert wurden, wiesen im Versuch eine abgeflachte Wachstumskurve mit Erreichen einer Plateauphase um 140g ab dem 12.-14. Tag auf [244]. Tiere ohne Tumor hingegen nahmen kontinuierlich an Gewicht zu und zeigten nach 28 Tagen ein Gesamtgewicht von etwa 200g [244]. Ebenfalls etwa 100g schwere Tiere, denen 10^8 Tumorzellen injiziert wurden, zeigten einen Rückgang des Gewichts und wogen nach 7 Tagen 88 ± 2 g. Die Kontrollgruppe des entsprechenden Versuchs wog zum gleichen Zeitpunkt 147 ± 3 g [245]. Bei Injektion von 10^8 Zellen in 200g schwere Tiere zeigte sich nach 10 Tagen eine Reduktion auf 130 ± 14 g, während die Kontrollgruppe ohne Tumor ein durchschnittliches Gewicht von 260 ± 25 g aufwies [243].

Im vorliegenden Versuch zeigte sich ein ähnliches Bild. Gegen Ende des Versuchs wogen die Tiere der Gruppe Placebo Tumor durchschnittlich 147.95 ± 2.56 g,

während die Tiere der Gruppe Placebo Sham im Mittel ein Gewicht von $268.38 \pm 5.30\text{g}$ aufwiesen (s. Tab. 3.1). Das Gesamtgewicht der tumortragenden Ratten in der vorliegenden Studie veränderte sich im Mittel um $-4.74 \pm 0.17\text{g}$ pro Tag, während die Kontrolltiere $3.88 \pm 0.23\text{g/d}$ zunahmen. Der Verlust pro Tag ist ein rechnerisch ermittelter Durchschnittswert und beruht auf dem Gesamtverlust und der Überlebenszeit. Der tatsächliche tägliche Verlust verläuft nicht linear und kann an einzelnen Tagen deutliche Schwankungen aufweisen.

Die fettfreie Masse ($-3.51 \pm 0.15\text{g/d}$) zeigt sich stärker an diesem Verlust beteiligt als die Fettmasse ($-0.99 \pm 0.05\text{g/d}$). Der prozentuale Rückgang ist jedoch bei letzterer deutlich ausgeprägter. Bezogen auf die Ausgangswerte ergibt sich zum Zeitpunkt der Tötung eine relative Veränderung des Gesamtgewichts um -27% (Gruppe Placebo Sham: $+28\%$), der fettfreien Masse um -26% (Placebo S: $+26\%$) und der Fettmasse um -65% (Placebo S: $+50\%$).

Das mittlere Gewicht des M. gastrocnemius ($713.22 \pm 14.07\text{mg}$) liegt hier bei 55% des entsprechenden Wertes der Kontrollgruppe ($1290.79 \pm 40.00\text{mg}$). Auch die Mm. extensor digitorum longus (EDL) (56%) und tibialis (58%) weisen einen ähnlichen Rückgang der Muskelmasse auf. Der M. soleus zeigt eine Abnahme der Muskelmasse auf 70% des Wertes der gesunden Kontrollgruppe. Im Versuch von Tessitore et al. [243] zeigte sich an Tag 10 ebenfalls ein deutlicher Gewichtsrückgang des Musculus gastrocnemius auf $37\text{-}40\%$ des Muskelgewichts der Kontrollgruppe. Andere Quellen berichten von einem Rückgang auf $70\text{-}87\%$, bezogen auf das Gewicht des M. gastrocnemius der Kontrolle, nach 7 Tagen [167, 245, 246]. Auch das Gewicht der Mm. soleus, tibialis und EDL sowie das Herzgewicht zeigten sich dort 10 Tage nach Injektion von 18^8 Tumorzellen verringert.

Die Leber, die Milz, die Nieren, das dorsale und peritoneale weiße Fettgewebe wie auch das interskapuläre braune Fettgewebe wiesen ebenfalls geringere Gewichte auf, lediglich die Nebennieren zeigten keine Gewichtsreduktion [167, 245]. In der vorliegenden Studie zeigen sich ebenfalls sämtliche untersuchten Organgewichte außer dem Gewicht der Nebennieren statistisch signifikant deutlich verringert. Dies kann als Zeichen einer systemischen Mangelatrophie angesehen werden. Das Gewicht der Nebenniere ist höher als bei den nicht-tumortragenden Tieren, dies geht mit erhöhten Spiegeln adrenaler Hormone einher [54]. Auch bei kachektischen Herzinsuffizienz-Patienten in der Humanmedizin [137] konnte dies beobachtet werden. Das Gewicht des braunen Fettgewebes beträgt 36% , das des weißen

4 Diskussion

Fettgewebes 6% des entsprechenden Gewichts der Kontrollgruppe. Das Fettgewebe zeigt sich demnach drastisch reduziert. Dies bestätigt den im NMR festgestellten starken Rückgang der gesamten Fettmasse des Körpers.

Wie Tessitore et al. [247] berichten, sank die Futtermittelaufnahme 180-200g schwerer Ratten nach Injektion von 10^8 Tumorzellen von 20g an Tag 0 auf etwa 9g an Tag 10. Andere Autoren berichten gleichfalls von verringerter Gesamtmittelaufnahme [167] wie auch Gesamtwasseraufnahme über den Versuchszeitraum [245]. Auch in der vorliegenden Studie sank die Futtermittelaufnahme der Tumorgruppe, von 19.81 ± 0.60 g an Tag 0 auf 3.00 ± 0.51 g an Tag 10. Die nicht-tumortragenden Tiere zeigten nur einen sehr geringen Rückgang der Futtermittelaufnahme über den Versuchszeitraum (Tag 0: 21.43 ± 0.48 g; Tag 10: 20.75 ± 1.08 g). Die spontane Aktivität der Tumortiere an Tag 10 ging um $71 \pm 3\%$ verglichen mit Tag 0 zurück, die der Kontrolltiere um $18 \pm 3\%$. Somit weisen diese Parameter, welche laut Bauhofer et al. [248] neben weiteren als Indikatoren für ein Äquivalent zur in der Humanmedizin beurteilten Lebensqualität angesehen werden können, statistisch signifikant eine deutliche Reduktion gegenüber den gesunden Tieren auf. Hiermit geht auch eine verkürzte Überlebensdauer der tumortragenden Tiere von 12.76 ± 0.33 Tagen bei einer Versuchsdauer von 16 Tagen einher.

Die genannten Wirkungen der Tumorinokulation und des Tumorwachstums in dieser Studie (s. Tab. 3.1) sind also im Einklang mit den Beobachtungen anderer Autoren.

In der echokardiographischen Untersuchung an Tag 11 zeigen sich negative Effekte des Tumorwachstums auf das Herz. Die Wandstärken von Septum und linksventrikulärer Hinterwand der tumortragenden Ratten zeigen einen Rückgang über den Versuchszeitraum. Dieser tritt in der Systole deutlicher zutage und fügt sich in das zu beobachtende Gesamtbild eines signifikanten Rückgangs der Muskelmasse ein. Entsprechend ist auch die Masse des linken Ventrikels verringert. Die geringere Wandstärke der Herzmuskulatur geht mit einer reduzierten Kontraktilität einher. Der end-systolische Durchmesser des linken Ventrikels ist vergrößert, während der end-diastolische Durchmesser im Vergleich zu gesunden Tieren verringert ist. Dies spiegelt sich in einer deutlich verringerten Auswurfsfraktion wider. Das entsprechend geringere Herzminutenvolumen ist zum Teil auch auf eine niedrigere

Herzfrequenz zurückzuführen (mittlere Herzfrequenz der Gruppe Placebo Tumor an Tag 0: 405/min, Tag 11: 359/min; Placebo Sham Tag 0: 413/min, Tag 11: 470/min). Die Verringerung von FS, EF und CO wie auch der erhöhte Wert für LVEDD sind Anzeichen einer systolischen Dysfunktion und können in einer insuffizienten Pumpleistung resultieren. Eine reduzierte diastolische Füllung ist Anzeichen einer diastolischen Dysfunktion. Der E/A-Quotient des Mitralfusses ist unverändert. Im Anfangsstadium einer diastolischen Dysfunktion würde sich hier ein verringerter Wert (<1) zeigen, bei schwerer Ausprägung wäre er deutlich vergrößert. Es existiert auch ein als pseudonormal bezeichneter Zustand im Übergang zwischen diesen Phasen [234]. Aufgrund der relativ kurzen Zeitspanne, innerhalb der beide Messungen durchgeführt wurden, sowie des generellen Ausmaßes der beobachteten Veränderungen erscheint es wahrscheinlicher, dass es sich hier maximal um eine diastolische Dysfunktion im Anfangsstadium handelt. Die Herzfrequenz zeigt sich nicht erhöht. Die Bestimmung der Herzfrequenz fand unter Narkose statt und erlaubt daher keinen Rückschluss auf die Ruhfrequenz. Der rechte Ventrikel wurde nicht untersucht, der Rückgang der Wandstärke des interventrikulären Septums könnte ein Hinweis auf eine Beteiligung auch der rechten Kammer sein. Da die zugrunde liegende Ursache ein systemischer Katabolismus ist, erscheint dies auch sehr wahrscheinlich. Ob die Beobachtung eines Rückgangs der Spontanaktivität auf geringere Belastbarkeit infolge einer insuffizienten Pumpleistung des Herzens zurückzuführen ist, oder ob sie durch andere Effekte des Tumorwachstums (wie Rückgang der Skelettmuskulatur oder Insulin-Resistenz) hervorgerufen wird, kann hier nicht geklärt werden.

Mit dem Wachstum des Tumors ist also die Entwicklung von Anzeichen einer linksventrikulären systolischen Dysfunktion verbunden. Die hier beobachtete starke Verringerung des Herzminutenvolumens (CO) ist ein Hinweis auf das Vorliegen einer Herzinsuffizienz bei Tieren der Gruppe Placebo Tumor.

Insgesamt zeigt der Vergleich der Gruppen Placebo Sham und Placebo Tumor klar die Kachexie-erzeugende Wirkung des im Versuch verwendeten Yoshida AH-130 Hepatoms. Die Verwendung dieses Tumors eignet sich somit zur Erkennung möglicher anti-kachektischer Effekte der im Versuch verwendeten Medikamente.

4.2 Monotherapie Sham-Versuch

Die Gabe von Allopurinol oder Oxypurinol zeigt im Vergleich mit der Verabreichung von Placebo keinen signifikanten Einfluss auf die tägliche Veränderung des Gesamtgewichts, der fettfreien Masse und der Fettmasse gesunder Tiere (s. Tab. 3.3). Oxypurinol 40mg ist die Behandlungsgruppe mit den geringsten Zuwächsen an fettfreier Masse und Gesamtgewicht. Die hohe Dosierung von Oxypurinol verzeichnet im Vergleich mit der niedrigen Dosierung ein signifikant niedrigeres Gewicht der Fettmasse. Die tägliche Veränderung dieses Parameters bestätigt dies nicht. Die niedrige Oxypurinol-Dosierung zeigt sich in der Zunahme an Fettmasse der Placebo-Gruppe und den anderen Behandlungsgruppen tendenziell überlegen. Letzteres äußert sich ebenfalls im Gewicht des retroperitonealen weißen Fettgewebes (s. Tab. 3.4). Der M. gastrocnemius der hoch dosierten Oxypurinol-Gruppe zeigt ein signifikant geringeres Gewicht als bei Oxypurinol in der niedrigen Dosierung und auch im Vergleich mit der hohen Dosierung von Allopurinol. Die Nebenieren aller Behandlungsgruppen sind leichter, im Fall von Allopurinol 40mg signifikant leichter als bei der Placebo-Gruppe. Die übrigen Organgewichte sowie Futteraufnahme und Spontanaktivität zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Auswirkungen auf die Herzfunktion erreichen nur sehr selten statistische Signifikanz (s. Tab. 3.5). Dies entspricht den Beobachtungen von Minhas et al. [213], die keine Unterschiede in den echokardiographischen Parametern zwischen Placebo- und Allopurinol-behandelten gesunden Wistar-Ratten verzeichneten.

Insgesamt hat die Gabe dieser Xanthinoxidase-Hemmstoffe keine nennenswerten Auswirkungen auf gesunde Tiere. Es deutet sich an, dass die Gabe von Oxypurinol in einer Dosierung von 40mg/kg/d gegenüber der niedrigen Dosierung und gegenüber Allopurinol in der gleichen Dosierung ungünstigere Effekte, wie einen geringeren Aufbau an Fettmasse und Muskelgewicht, aufweist.

4.3 Monotherapie Tumor-Versuch

Ziel des Versuchs war die Evaluation einer möglichen antikachektischen Wirkung dieser Inhibitoren der Xanthinoxidase am Tumormodell der Ratte, sowie die Ermittlung der effektiven Dosis für den nachfolgenden Kombinationsversuch.

Ein Vergleich der antikachektischen Wirkung der XO-Inhibitoren mit der anderer Medikationen ist aufgrund häufig abweichender Rahmenbedingungen dieser Studien wie Dauer des Versuchs, Alter der Tiere, Art des Tumors und Menge der injizierten Tumorzellen schwierig. Eine einordnende Bewertung der Wirksamkeit ist daher nur begrenzt möglich.

Die niedrige Dosierung von Oxypurinol zeigt im folgenden Kapitel häufig die deutlichste positive Wirkung, gefolgt von beiden Allopurinol-Dosierungen. Hoch dosiertes Oxypurinol hingegen zeigt meist den geringsten positiven Effekt. Diese Rangfolge der Wirkung zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen findet sich bei vielen der untersuchten Parameter. Die möglichen Ursachen hierfür werden daher zusammenfassend im Abschnitt „Resumée“ am Ende dieses Kapitels besprochen.

4.3.1 Tumorwachstum

Die Behandlung mit XO-Inhibitoren zeigt keinen hemmenden Einfluss auf das numerische Wachstum der Tumorzellen (s. Abb. 3.2). Vielmehr zeigen alle Behandlungsgruppen entweder keinen Unterschied zur Placebo-Gruppe oder signifikant höhere Gesamtzellzahlen als diese. Dies steht entgegen den Beobachtungen von Iwamoto et al. [221], die von einer Inhibition des Zellwachstums bei Hepatomzellen (HTC) der Ratte durch Allopurinol berichten. Die Verdopplungszeit dieser HTC-Zellen liegt bei 30 Stunden, die der AH-130-Zellen bei etwa 24 Stunden. Die Autoren berichten von einer mit der Wachstums-Hemmung korrelierenden Inhibition der de-novo Purin-Synthese sowie von einer positiven Dosis-Wirkungs-Beziehung bis hin zu direkten zytotoxischen Effekten. Auch die Pyrimidinbiosynthese wird durch Allopurinol gehemmt [249]. Allerdings lagen die HTC-Zellen im Versuch von Iwamoto in einer Suspension vor, der Allopurinol direkt zugesetzt wurde. Im vorliegenden Versuch dagegen wurde Allopurinol oral verabreicht, wodurch die intra-peritoneal vorliegende Konzentration niedrigere Werte erreicht. Das Augenmerk bei der Gabe und der Dosierung von XO-Inhibitoren lag hierbei weniger auf einer

möglichen direkten Hemmung des Tumorwachstums als vielmehr auf den Auswirkungen eines reduzierten oxidativen Stresses und einer geringeren Harnsäurekonzentration auf den Gesamtmetabolismus. Insofern ist die fehlende Inhibition des Wachstums der Tumorzellen zu erklären.

Die Menge der intraperitonealen Tumorflüssigkeit hingegen ist bei allen Behandlungsgruppen geringer als bei der Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.1). Am deutlichsten ist dies bei der Gruppe Allopurinol 40mg ausgeprägt. Verglichen mit der bei den Tieren der Placebo-Gruppe ermittelten Tumormenge weist die Gruppe Oxypurinol 40mg im Mittel eine Reduktion um 12%, die niedrig dosierten Gruppen von Allopurinol und Oxypurinol um 20% und die Gruppe Allopurinol 40mg eine Reduktion der gebildeten Tumorflüssigkeit um 33% auf. Die intraperitoneale Tumorflüssigkeit stellt einen Aszites dar. Da Brusthöhle und Organe, auch die Lunge, keine Anzeichen einer Ödematisierung zeigen, wird dies offenbar nicht durch eine Steigerung des vaskulären Drucks verursacht. Dies steht im Widerspruch zur durch die erhöhten ROS-Spiegel vermittelten Reduktion der Vasodilatation [205], welche sich systemisch ausprägen würde. Möglicherweise ist die tumor-assoziiert erhöhte XO-Aktivität, welche über Steigerung der ROS-Produktion und nachfolgende Verringerung der Konzentration an endogenem NO [250] die Vasodilatation hemmt, lokal noch stärker ausgeprägt als anhand der systemischen Reaktion zu vermuten wäre. Die intraperitoneale Flüssigkeit könnte theoretisch auch über einen gesteigerten kolloidosmotischen Druck zustande kommen.

Wahrscheinlich ist die Flüssigkeitsansammlung jedoch Zeichen einer lokal begrenzten entzündlichen Permeabilitätssteigerung des Endothels. Der Erstbeschreiber dieser transplantablen Hepatome in Aszitesform, Yoshida [251], spricht im Zusammenhang mit diesem Tumoraszites von einer „Peritonitis carcinomatosa“. Auch stimulieren Tumore häufig die Angiogenese und bewirken so eine lokal gesteigerte Durchblutung. Im übrigen ist endothelial gebildetes NO neben der Vasodilatation auch an weiteren Funktionen des Endothels beteiligt und hat zudem anti-inflammatorische Wirkung [252]. Somit könnte ein aus der Gabe von XO-Inhibitoren resultierender NO-Anstieg auch über eine entzündungshemmende Wirkung an der Reduktion der Bauchhöhlenflüssigkeit beteiligt sein.

Nishikawa et al. [253] beobachteten eine gesteigerte Apoptoserate der Tumorzellen durch einen erhöhten NO-Spiegel in der Aszitesflüssigkeit. Dieser wird 1-2 Wochen nach Inokulation durch die iNOS (inducible nitric oxide synthetase) einwandernder

Makrophagen bewirkt. Sauerstoffradikale (O_2^-) verringern die Konzentration an NO durch Reaktion zu Peroxynitrit [250]. Davon ausgehend, dass infolge der Medikation die Konzentration solcher Sauerstoffradikale verringert ist, müsste ein solcher Rückgang der Tumorzellzahl auch im vorliegenden Versuch zu beobachten gewesen sein. Dies war nicht der Fall.

Die Bildung eines intraperitonealen Tumors drückt ab einem gewissen Volumen das Zwerchfell nach kranial. Somit wird über eine Minderung der physiologischen Zwerchfellfunktion die Atmung der tumortragenden Tiere erschwert. Dies geht mit einer Aktivitätsminderung einher. Eine Beeinträchtigung der Atmung kann zu verminderter Oxygenierung des Blutes führen. Bei Sauerstoffmangel wird die Deckung des Energiebedarfs über eine verstärkte Glykolyse vorgenommen. Aufgrund der geringeren energetischen Ausbeute kommt es bei gleichem Bedarf zu einer früheren und stärkeren Mobilisierung der Energiereserven. Ein Abbau der Muskulatur erschwert die Atmung zusätzlich. Die hier vorliegende Reduktion der Menge an Tumorflüssigkeit infolge der Medikation könnte demnach über eine Erleichterung der Atemtätigkeit einen der Kachexie entgegenwirkenden Effekt erzielen.

4.3.2 Überleben

Alle Behandlungsgruppen weisen im Vergleich mit der Placebo-behandelten Gruppe eine signifikant höhere Überlebenswahrscheinlichkeit auf (s. Abb. 3.3 sowie Tab. 3.6). Die mit Oxypurinol in der niedrigen Dosierung oder mit Allopurinol in der hohen Dosierung behandelten Tiere weisen die höchste Überlebenswahrscheinlichkeit auf. Niedrig dosiertes Allopurinol und hoch dosiertes Oxypurinol zeigen hier niedrigere Werte. Dennoch zeigen auch diese Behandlungen Vorteile gegenüber der Gabe von Placebo.

Infolge der Medikation sinken oxidativer Stress und Harnsäuregehalt des Blutes [181, 182]. Dies geht möglicherweise mit einer Minderung des tumor-assoziierten chronischen Entzündungsgeschehens einher. Bei Ratten mit induziertem Kolontumor konnte durch Salim [254] eine signifikant längere mittlere Überlebenszeit nach ROS-Reduktion infolge der Gabe von Allopurinol oder Dimethylsulfoxid nachgewiesen werden. Der Harnsäuregehalt wiederum ist signifikant positiv mit den Plasmaspiegeln entzündlicher Parameter wie CRP, IL-6, TNF- α (s. Abb. 4.1) oder

der Anzahl an neutrophilen Granulozyten im Plasma assoziiert [255], und wurde als negativer prognostischer Faktor der Überlebenszeit von Tumorpatienten [256] beschrieben.

Die verlängerte Überlebenszeit im vorliegenden Versuch geht einher mit einer in vielen Studien (Übersicht in: Pacher et al. [182]) bestätigten Verbesserung der Herzfunktion durch Hemmung der XO (s. Tab. 3.9), einer Erhaltung allgemein des Körpergewichts und speziell der Muskulatur, einem Rückgang der Menge an Tumorflüssigkeit sowie einer Abmilderung krankheitsbedingter Verhaltensmerkmale, des sogenannten „sickness behaviour“ (s. Tab. 3.7 und 3.8).

4.3.3 Gewicht und Körperzusammensetzung

Keine Medikation bewirkt im vorliegenden Versuch eine Zunahme des Gesamtgewichts, jedoch verliert auch keine der Behandlungsgruppen so stark an Gewicht wie die Placebo-Gruppe (s. Tab. 3.7 und Abb. 3.6). Innerhalb der einzelnen Gruppen zeigt sich eine Gewichtsreduktion auf 73% des Anfangsgewichts bei der Placebo-Gruppe, 79% bei Gabe von Oxypurinol 40mg, 86% bei Allopurinol 4mg, 87% bei Allopurinol 40mg und auf 93% des Anfangsgewichts bei Oxypurinol 4mg. Die niedrige Dosierung von Oxypurinol konnte den tumorbedingten Gewichtsverlust demnach deutlicher begrenzen als Allopurinol. Dieses wiederum ist in beiden Dosierungen der hohen Oxypurinol-Gabe überlegen. Die beschriebenen Unterschiede in der Entwicklung des Gesamtgewichts erreichen im direkten Vergleich der einzelnen Behandlungsgruppen jedoch keine statistische Signifikanz. Die mit Oxypurinol 4mg behandelten Ratten weisen 73% des Endgewichtes der gesunden, Placebo-behandelten Tiere auf (Gruppe Placebo Sham, s. Kap. 4.1). Das Endgewicht der tumortragenden, Placebo-behandelten Tiere beträgt dagegen 55% des Wertes der Gruppe Placebo Sham. Somit kann die Gabe von Oxypurinol 4mg/kg/d den tumorbedingten Gewichtsverlust um 40% abschwächen.

Der durch Magnetresonanz-Spektroskopie ermittelte Anteil der fettfreien Masse, also der Muskulatur und der Organe, am Gesamtgewicht liegt für alle Gruppen zu Versuchsbeginn bei 75-78%. Innerhalb jeder Gruppe zeigt sich zu Versuchsende eine maximale Änderung dieses Anteils von 1%, er bleibt also annähernd gleich (s. Tab. 3.7). Medikationsabhängige Reduktion des Gewichtsverlusts ist somit zum größten Teil auf eine verstärkte Erhaltung der fettfreien Masse des Körpers

zurückzuführen. Dementsprechend stellt sich der prozentuale Verlust an fettfreier Masse sehr ähnlich dem prozentualen Verlust an Gesamtgewicht dar. Oxypurinol 4mg konnte demnach den Verlust an fettfreier Masse stärker begrenzen als die übrigen Behandlungsgruppen. Der positive Effekt der Medikationen auf den Erhalt fettfreier Masse ist bei Oxypurinol in der hohen Dosierung am geringsten ausgeprägt. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen erreichen jedoch keine statistische Signifikanz. Analog zur Entwicklung des Gesamtgewichts bewirkt die Gabe von Oxypurinol 4mg eine Abschwächung des tumorassoziierten Verlusts (bezogen auf die Entwicklung bei gesunden unbehandelten Tieren) an fettfreier Masse um 41% gegenüber der Gabe von Placebo.

Bei der ebenfalls durch Magnetresonanz-Spektroskopie ermittelten Gesamt-Fettmasse des Körpers zeigen sich zu Beginn des Versuchs größere Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen als bei der fettfreien Masse. Diese mögen zum Teil auf die geringere absolute Masse zurückzuführen sein, welche zwischen $17.87 \pm 0.47\text{g}$ (Placebo Tumor) und $23.06 \pm 1.12\text{g}$ (Oxypurinol 40mg) liegt. Oxypurinol zeigt an Tag 0 in beiden Dosierungen einen signifikanten Unterschied zur Placebo-Gruppe. Dies ändert sich im Laufe des Versuchs. Der tägliche Verlust an Fettmasse bei der Gruppe Oxypurinol 40mg übertrifft sogar den der Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.11). Allerdings ist dies auch auf einen höheren Ausgangswert zurückzuführen, der prozentuale Verlust dieser beiden Gruppen ist nahezu gleich. Zu Versuchsende weisen die Gruppen Oxypurinol 40mg und Placebo Tumor noch 36 - 37% der ursprünglichen Fettmasse auf (s. Tab. 3.7). Allopurinol in der niedrigen Dosierung vermag 50% der anfänglichen Fettmasse zu erhalten, in der hohen Dosierung zeigt sich ein Rückgang auf nur 59% der Ausgangsmasse. Der geringste Verlust zeigt sich aber bei niedrig dosiertem Oxypurinol. Hier entspricht die zum Tötungszeitpunkt festgestellte Fettmasse 66% der Ausgangsmasse oder 210% der Fettmasse der Gruppe Placebo Tumor. Die Tiere der letztgenannten Gruppe weisen zu diesem Zeitpunkt 28%, die der Behandlungsgruppe Oxypurinol 4mg dagegen 55% des Wertes der Gruppe Placebo Sham auf. Somit kann die Behandlung mit Oxypurinol in einer Dosierung von 4mg/kg/d den tumorbedingten Verlust an Fettmasse um 39% abmildern.

Die Erhaltung des Körpergewichts geht einher mit einer gesteigerten Erhaltung von Muskulatur, Organen und Fettgewebe wie auch mit einer geringeren Reduktion der Futtermittelaufnahme (s. Tab. 3.7 und 3.8). Die möglichen Ursachen für die Erhaltung von

Muskulatur, Organen und Fettgewebe werden im folgenden Abschnitt „Innere Organe, Fettgewebe und Skelettmuskulatur“ behandelt.

4.3.4 Innere Organe, Fettgewebe und Skelettmuskulatur

Alle Behandlungsgruppen weisen leicht bis deutlich erhöhte Herzgewichte auf (s. Tab. 3.8). In einem Mausmodell der dilatativen Kardiomyopathie konnten Duncan et al. [210] zeigen, dass eine Langzeit-Medikation mit Allopurinol durch Verminderung der ROS-Produktion eine verringerte oxidative Schädigung der Myofilament-Proteine hervorruft. Oxidativer Stress induziert eine Carbonylierung der Seitenketten von Aminosäuren, diese ist irreversibel und markiert das Protein für den Abbau über das Proteasom-System [257]. Zudem geht oxidativer Stress mit einer Aktivierung des Ubiquitin-Proteasom-Systems einher [115, 117]. Somit äußert sich die Wirkung der XO-Inhibitoren nicht nur in einer Erhaltung der Herzfunktion (s. Abschnitt Echokardiographie). Grundlage hierfür ist eine Erhaltung des Proteingehaltes der Herzmuskulatur, welche sich auch in den beschriebenen höheren Organgewichten äußert. Dies deckt sich mit den Beobachtungen kardioprotektiver Effekte von Allopurinol bei verschiedensten krankhaften Zuständen des kardiovaskulären Systems [182]. Auch eine infolge der Medikation erniedrigte Harnsäure-Konzentration könnte über ihren Einfluss auf die Entzündungsreaktion des Körpers an der Erhaltung der Herzmuskulatur beteiligt sein [209, 255].

Bei Lunge, Milz, Leber und Niere zeigen ebenfalls alle Behandlungsgruppen höhere Gewichte als die Placebo-Gruppe, Oxypurinol 40mg zeigt jeweils den geringsten positiven Effekt (s. Tab. 3.8). Noriki et al. [258] führen in einer Arbeit aus dem Jahr 1989 die atrophische Schädigung der Organe („multi organ damage“) bei Ratten mit AH-130 Hepatom auf durch ROS verursachte DNA-Schäden zurück. Dies deckt sich mit der im vorliegenden Versuch gemachten Beobachtung, dass Reduktion der ROS-Spiegel mit erhöhten Organgewichten einhergeht. Da jedoch die Gabe von hoch dosiertem Oxypurinol die tumor-begleitende ROS-Produktion am deutlichsten senkt [259], wären hier auch die höchsten Werte für das Gewicht der einzelnen Organe zu erwarten. Dies ist nicht der Fall. Die Tiere der Gruppe Oxypurinol 40mg weisen im Gegenteil die niedrigsten Werte aller Behandlungsgruppen für das Gewicht von Lunge, Milz, Leber und Niere auf. Somit wird deutlich, dass die ROS-Konzentration nicht allein für den Gewichtsrückgang dieser Organe verantwortlich

sein kann. Vielmehr ist dies auch auf eine verstärkte Erhaltung des funktionellen Gewebes infolge der Abschwächung des systemischen Katabolismus zurückzuführen. Dies wiederum kann vermutlich mit einer reduzierten Entzündungsreaktion durch Hemmung der Produktion pro-inflammatorischer Faktoren wie Harnsäure [209] und Sauerstoffradikale [195] erklärt werden. Möglicherweise hat eine direkte oder durch Akkumulation entstandene Überdosierung [186, 259] bei Gabe von Oxypurinol 40mg/kg/d hier einen negativen Einfluss. Dies würde die beobachteten Effekte erklären.

Die Nebennieren aller Behandlungsgruppen sind leichter als die der Placebo-Gruppe (s. Tab. 3.8). Dies legt den Schluss nahe, dass durch die Behandlung auch die adrenale Hormon-Produktion abgeschwächt wird. Eine Sympathikus-Aktivierung wurde als wichtiger Faktor bei kardialer Kachexie beschrieben [137, 227]. Anker [226] berichtet von erhöhten Noradrenalin-Spiegeln bei Kachexie infolge verschiedenster Primär-Erkrankungen, einschließlich tumoröser Erkrankung. Eine chronische Entzündungsreaktion mit Aktivierung pro-inflammatorischer Zytokine, welche ein Schlüsselmerkmal auch der Tumorkachexie [2] darstellt, ruft eine systemische anti-inflammatorische Feedback-Reaktion hervor [260]. Diese wird über Glukokortikoide und Katecholamine vermittelt und unterdrückt die Produktion von TNF- α und weiteren pro-inflammatorischen Zytokinen [261]. Die erhobenen Werte könnten dahingehend interpretiert werden, dass die Behandlung mit XO-Inhibitoren über eine Reduktion des oxidativen Stresses zu einer verminderten systemischen Entzündungsreaktion führt. Dies hätte eine entsprechend verringerte regulative Reaktion zur Folge, welche sich in einer verminderten Syntheseleistung an adrenalen Hormonen und demzufolge einem niedrigeren Gewicht der Nebenniere ausdrücken würde.

Das geringere Nebennierengewicht könnte auch auf die Verbesserung der Herzfunktion zurückgeführt werden. Die tumortragenden Tiere der vorliegenden Studie zeigen Symptome einer Herzinsuffizienz (s. Kap. 4.1). Ein erhöhter Sympathikotonus mit Ausschüttung von Katecholaminen bei Herzinsuffizienz ist bekannt [228]. Somit könnte infolge der weniger beeinträchtigten Herzfunktion eine kompensatorische Erhöhung der Ausschüttung dieser adrenergen Hormone unterbleiben oder abgeschwächt werden. Entsprechend zeigen die Behandlungsgruppen Werte für das Nebennierengewicht (zwischen $28.82 \pm 1.68\text{mg}$ und $30.95 \pm 1.47\text{mg}$), die sich näher am Wert der Gruppe Placebo Sham ($28.65 \pm 0.96\text{mg}$) als dem der

4 Diskussion

Gruppe Placebo Tumor ($35.13 \pm 1.77\text{mg}$) befinden, jedoch ohne dass hier statistisch signifikante Unterschiede erreicht werden (s. Tab. 3.1 und 3.8).

In der Erhaltung des retroperitonealen weißen und des interskapulären braunen Fettgewebes weist Oxypurinol 40mg bessere Werte auf als die Allopurinol-Gruppen (s. Tab. 3.8). Die Entwicklung der Gesamtfettmasse des Körpers zeigt eine gegenteilige Tendenz (s. Tab. 3.7). Hier weist diese Gruppe den deutlichsten Rückgang an Fettmasse aller Behandlungsgruppen auf, und der zu Versuchsende noch vorhandene Anteil der Ausgangs-Fettmasse ist vergleichbar dem bei der Placebo-behandelten Tumor-Gruppe. Die Ursache der Diskrepanz bei diesen doch eng verknüpften Parametern ist unklar. Die Allopurinol-Gruppen zeigen mit steigender Dosis höhere Werte für weißes und braunes Fett. Oxypurinol 4mg weist jeweils den höchsten Wert aller Behandlungsgruppen auf. Die Tiere dieser Gruppe zeigen eine Erhaltung von 38% des weißen und 57% des braunen Fettes sowie von 55% der Gesamt-Fettmasse, gemessen an der Gruppe Placebo Sham.

In Studien von Lopez-Soriano et al. [262, 263] zeigten Ratten mit AH-130 Hepatom unklare Aktivitätsmuster der Lipoprotein-Lipase des weißen und braunen Fettgewebes, welche für die Aufnahme der Fettsäuren aus den Lipoproteinen des Blutes in die Adipozyten benötigt werden. Kachektische Patienten einer humanmedizinischen Studie zeigten erhöhte mRNA-Spiegel für die lipolytische Hormonsensitive Lipase (HSL) [136]. Kawasaki et al. [264] zeigten auch für Ratten mit AH-109A Hepatom einen Anstieg des HSL-Spiegels sowie einen Rückgang der LPL-Konzentration des weißen Fettgewebes. Die Serumspiegel an Triglyceriden und Cholesterol waren hier entsprechend signifikant höher als bei der Kontrolle. Gleichzeitig verzeichneten sie einen erhöhten Serumspiegel an TNF- α . Die Injektion von Endotoxin als Modell einer Infektion mit begleitender Sekretion von TNF- α ins Blut ging ebenfalls mit erhöhten Serumspiegeln an Triglyceriden und Cholesterol einher. Dies deutet auf eine ursächliche Beteiligung von TNF- α an der Genese einer Hyperlipidämie hin [264]. In einem Versuch von Lopez-Soriano et al. [263] zeigten auch Ratten mit AH-130 Hepatom eine deutliche Hypertriglyceridämie. Wahrscheinlich ist dies auch hier TNF- α -vermittelt [54]. Bei ansonsten gesunden, unilateral nephrektomierten Ratten mit diät-induzierter Hyperlipidämie wurden durch Scheuer et al. [265] in der Niere erhöhte ROS-Spiegel in Verbindung mit gesteigerter Proteinkonzentration und erhöhter Aktivität der Xanthinoxidase nachgewiesen. Bei

Patienten mit Hyperlipoproteinämie konnte auch eine positive Korrelation für die Serumspiegel von XO und Triglyceriden gezeigt werden [266]. Möglicherweise induziert Hyperlipidämie eine Aktivierung der XO.

Die Gabe der XO-Inhibitoren im vorliegenden Versuch verringert die Konzentration an Harnsäure und ROS [181, 182]. Erhöhte Harnsäure-Spiegel korrelieren mit zirkulierenden Entzündungsmarkern (s. Abb. 4.1), insbesondere mit erhöhten Spiegeln an TNF- α und den gelösten TNF-Rezeptoren sTNFR1 und sTNFR2 [209]. Die Beteiligung von ROS an der Signalübertragung zwischen TNF- α und NF- κ B wird diskutiert [115, 267]. Erhöhte ROS-Spiegel könnten so die Wirkung höherer TNF- α -Konzentrationen simulieren. Die Verringerung der ROS-Produktion nach Gabe von Allopurinol und Oxypurinol könnte demnach die beobachtete Erhaltung des Fettgewebes erklären.

Auch eine Erhaltung der Herzfunktion kann hieran ursächlich beteiligt sein. Eine EF von $\leq 45\%$ geht nicht nur mit gesteigerten Noradrenalin-Spiegeln einher, auch der Wert für das Atriale Natriuretische Peptid (ANP) zeigt sich signifikant erhöht [268]. Natriuretische Peptide stimulieren die Lipolyse in Adipozyten [269], und diese lipolytischen Effekte sind bei kachektischen Tumorpatienten gegenüber nicht-kachektischen Patienten um den Faktor 2-3 erhöht [138]. Die Tiere der Gruppe Placebo Tumor zeigten im vorliegenden Versuch ebenfalls drastisch verringerte Werte (EF: 48.94% gegenüber 77.22% bei der Gruppe Placebo Sham) für die Ejektionsfraktion des linken Ventrikels (s. Tab. 3.2). Die Medikation mit Xanthinoxidase-Inhibitoren ging stets sowohl mit signifikant höheren Werten für EF im Vergleich zur Placebo-behandelten Tumorgruppe (s. Tab. 3.9) als auch mit signifikant höheren Gewichten an weißem und braunem Fettgewebe einher (s. Tab. 3.8 sowie Abb. 3.11). Möglicherweise sind natriuretische Peptide also an diesem Geschehen beteiligt. Ob auch der bei Mensch und Maus nachgewiesene [75] Lipid Mobilising Factor (LMF) durch Induktion der Lipolyse [141] am beobachteten Rückgang des Fettgewebes in der vorliegenden Studie beteiligt ist, kann weder ausgeschlossen noch verifiziert werden.

Alle Behandlungsgruppen zeigen größere Gewichte der Mm. gastrocnemius, soleus, EDL und tibialis als die Placebo-Gruppe (s. Tab. 3.8). Die Spannbreite reicht hier von +5% (Oxypurinol 40mg, M. gastrocnemius und M. soleus) bis +34% (Oxypurinol 4mg, M. EDL) gegenüber der Placebo-Gruppe. Oxypurinol 4mg zeigt für alle

untersuchten Muskeln die ausgeprägteste Kapazität zur Erhaltung der Muskelmasse (M. gastrocnemius: +27%, M. EDL: +34%, M. tibialis: +32%, jeweils $p < 0.001$ t-Test vs. Placebo Tumor; M. soleus: +16%), während Oxypurinol 40mg diese Fähigkeit in deutlich geringerem Maße (+5-8%, $p > 0.05$ t-Test vs. Placebo Tumor) als alle anderen Behandlungsgruppen aufweist. Jedoch sind die beschriebenen Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen nicht signifikant. Die verstärkte Erhaltung der Muskelmasse ist bei allen behandelten Gruppen für den M. soleus am geringsten ausgeprägt. Dieser ist jedoch auch weniger stark von der tumorbedingten Abnahme der Muskelmasse betroffen als die übrigen untersuchten Muskeln (s. Kap. 4.1). Dies deckt sich mit den Beobachtungen von Tessitore et al. [247], welche einen generell schnelleren Schwund weißer „fast-twitch“-Muskel Fasern im Vergleich zu roten „slow-twitch“-Fasern zur Begründung anführen.

Der Erhaltung der Muskelmasse bei Gabe von XO-Inhibitoren dürfte eine geringere Aktivierung des Protein-Katabolismus, namentlich des Ubiquitin-Proteasom-Systems, zugrunde liegen (s. Abb. 4.1). Hierbei kommt unter anderem der Aktivierung von NF_κB eine wichtige Rolle zu: Neben weiteren Effekten wird hierdurch die Expression der E3-Ligase MuRF-1 verstärkt, dies erhöht die Ubiquitinierungs-Kapazität [109]. Bei Mäusen, welche einen $\text{I}_\kappa\text{B}-\alpha$ Superrepressor bilden, konnte tumor-induzierter Muskelverlust reduziert und die Überlebensrate verbessert werden [109]. $\text{I}_\kappa\text{B}-\alpha$ bindet NF_κB und deaktiviert es somit. Auch die Produktion proinflammatorischer Zytokine wie IL-6 wird durch NF_κB verstärkt, wie Watchorn et al. [36] an humanen Hepatozyten nachgewiesen haben. Entsprechend zeigt die Gabe eines kombinierten AP-1/ NF_κB -Inhibitors bei der Ratte mit AH-130 Hepatom durch Moore-Carrasco et al. [119] eine signifikante Erhaltung der Muskelmasse des M. gastrocnemius mit +17%, des M. EDL mit +27% und des M. tibialis mit +15% (jeweils $p < 0.05$) nach 7 Tagen. Der M. soleus (+6%) weist hier kein signifikant größeres Gewicht auf als die Kontrolle. Allerdings führen die Autoren dieser Studie den beobachteten Effekt auf die Hemmung des AP-1 Signalwegs zurück. Li et al. [115] konnten zeigen, dass $\text{TNF}-\alpha$ im Skelettmuskel der Ratte die Degradation von I_κB stimuliert und somit NF_κB aktiviert. Ferner zeigten sie, dass exogenes Wasserstoffperoxid in der gleichen Weise wirkt, und dass Gabe von Katalase die Aktivierung von NF_κB verhindert. Bowie et al. [267] bezweifeln allerdings, dass ROS kausal an der Aktivierung von NF_κB beteiligt sind. In einer Studie von Mastrocola et al. [106] an Ratten mit AH-130 Hepatom ging aber auch die Gabe des antioxidativ wirkenden

Dehydroepiandrosteron (DHEA) mit einer signifikanten Gewichtserhöhung des *M. gastrocnemius* einher. Eine anabole Wirkung von DHEA konnte hier ausgeschlossen werden, da die Behandlung gesunder Tiere keine Veränderungen in Körpergewicht und Muskelmasse bewirkte. Zugleich zeigte sich eine teilweise Normalisierung des MuRF-1 mRNA-Spiegels und der Aktivität des Proteasom-Systems [106]. Der MuRF-1 mRNA-Spiegel war hier in Abwesenheit einer NF κ B-Aktivierung signifikant erhöht. Ob der in der vorliegenden Studie deutlich gewordene positive Effekt einer Inhibition der XO auf die Erhaltung der Muskelmasse auf eine Inhibition der Aktivierung von NF κ B zurückzuführen ist, bedürfte weiterer Untersuchungen. Es erscheint aber wahrscheinlich.

Durch Oxidation von Membranlipiden oder Nukleinsäuren kommt es allgemein zu Zellschädigungen, welche in Zelluntergang und Volumenminderung der betroffenen Gewebe münden [191, 270]. Es erscheint ebenfalls wahrscheinlich, dass die bereits beim Parameter Herzgewicht beschriebene Erhaltung der Myofilamente durch Verringerung der ROS-Konzentration [210] auch in der Skelettmuskulatur vorliegt. Somit wäre neben der generellen Reduktion der Protein-Degradation durch Abschwächung der systemischen Entzündungsreaktion auch ein direkter Schutz der Myofilamente vor übermäßiger Oxidation an der Erhaltung der Muskelmasse beteiligt.

4.3.5 „Quality of life“

Eine Beurteilung der Lebensqualität, wie sie bei Menschen vorgenommen werden kann, ist bei Tieren naturgemäss schwierig. Bauhofer et al. [248] gehen davon aus, dass die Evaluation des sogenannten „sickness behaviour“ bei Tieren mit der Beurteilung der Lebensqualität beim Menschen gleichgesetzt werden kann. Hierzu zählen die in der vorliegenden Studie untersuchten Parameter Futteraufnahme und Spontanaktivität (s. Tab. 3.8 sowie Abb. 3.13 und 3.14).

Auch hier zeigt sich die bei den meisten Parametern gleiche Rangfolge innerhalb der Behandlungsgruppen. Die Gabe von Oxypurinol 4mg geht einher mit der höchsten Menge an aufgenommenem Futter an Tag 10 wie auch mit dem geringsten Aktivitätsrückgang von Tag 0 bis Tag 11, verglichen mit den übrigen Behandlungsgruppen und der Placebo-Gruppe. Es folgen beide Dosierungen von Allopurinol. Die Gabe hochdosierten Oxypurinols ist mit den geringsten Vorteilen

gegenüber der Gabe von Placebo verbunden, die Futteraufnahme bei Gabe von Oxypurinol 40mg ist nicht signifikant höher als bei der Gruppe Placebo Tumor. Diese zeigt nur 15% der Futteraufnahme gesunder, Placebo-behandelter Tiere, die Tiere der Gruppe Oxypurinol 4mg weisen immerhin noch 63% des Wertes der Gruppe Placebo Sham auf. Somit geht die Gabe von niedrig dosiertem Oxypurinol mit einer Abschwächung des tumor-assoziierten Rückgangs der Futteraufnahme um 57% einher.

Wie bereits in Kap. 1.2.2 erwähnt, ist die Tumoranorexie multifaktoriell bedingt [2]. Lopez-Soriano et al. [271] zufolge hängt die tumor-induzierte Anorexie bei der Ratte nicht mit Veränderungen des Leptin-Spiegels zusammen. Eine Milderung der Anorexie tumortragender Ratten bei frühzeitiger Anreicherung des Futters mit Antioxidantien berichten Laviano et al. [30]. Die Gabe von XO-Inhibitoren geht ebenfalls mit einer Verringerung der ROS-Konzentration einher. Eine durch TNF- α induzierte Aktivierung von NF- κ B wird wahrscheinlich über ROS vermittelt [115]. Ein signifikanter Anstieg der Futteraufnahme wird auch für die Gabe eines kombinierten AP-1/NF- κ B-Inhibitors beschrieben [119], die Autoren dieser Studie führen dies allerdings auf die AP-1-Hemmung zurück. Ein schwächerer Anstieg war dort auch bei nicht-tumortragenden Tieren zu beobachten. In der vorliegenden Studie ging die XO-Inhibition bei nicht-tumortragenden Tieren entsprechend mit keiner signifikanten Veränderung der Futteraufnahme einher (s. Kap. 4.1).

Durch Tumorstadium induzierte Anorexie im Kachexiemodell der Maus konnte durch zentrale Blockade des Melanocortin-4 Rezeptors abgeschwächt werden [272]. POMC-Neuronen weisen IL-1 β -Rezeptoren vom Typ I auf. Das proinflammatorische Zytokin IL-1 β bewirkt hier eine Ausschüttung von Melanozyten-stimulierendem Hormon und aktiviert somit das für die Regulation der Energiehomöostase wichtige Melanocortin-System [273]. Veränderungen des inflammatorischen Status können somit direkten Einfluss auf die Futteraufnahme haben. Dies könnte auch, über die von Tessitore et al. [54] berichtete Erhöhung von TNF- α , an dem in der vorliegenden Studie beobachteten Effekt beteiligt sein. Möglicherweise ist der Rückgang der Futteraufnahme zum Teil auch auf eine zunehmende Asthenie und Apathie zurückzuführen. Somit wäre die in der vorliegenden Studie beobachtete Minderung des Rückgangs der Futteraufnahme eine indirekte Folge der Medikation, ohne dass direkt orexigene und anorexigene Signalwege wie beispielsweise die Regulation über Serotonin beeinflusst würden.

Die Spontanaktivität aller Behandlungsgruppen zeigt einen signifikant positiven Effekt der Medikation. Dies wird ermöglicht durch die Erhaltung der Muskulatur und der Herzfunktion. Sie ist daher als Ausdruck eines verbesserten Allgemeinbefindens zu werten und bestätigt somit das in den übrigen untersuchten Parametern beobachtete Gesamtbild.

4.3.6 Echokardiographie

Das Wachstum des Tumors geht mit der Entwicklung von Anzeichen einer systolischen Dysfunktion einher (s. Kap. 4.1). Dies resultiert in einer insuffizienten Pumpleistung des Herzens, es entwickelt sich eine Herzinsuffizienz.

Die systolischen Wandstärken von Septum und Hinterwand sind bei allen Behandlungsgruppen signifikant größer als bei der Placebo-Gruppe (s. Tab. 3.9). In der Diastole zeigen die behandelten Tiere ebenfalls tendenziell größere Wandstärken, dies erreicht nicht in allen Fällen statistische Signifikanz. Entsprechend ist auch die linksventrikuläre Masse größer, dieser Wert erreicht nur bei den Tieren der Behandlungsgruppe Oxyrinol 40mg keine statistische Signifikanz. Die Medikation geht also mit einer verstärkten Erhaltung der Herzmuskulatur einher. Die in einer Erhaltung der Herzmuskulatur resultierenden Wirkmechanismen sind bereits im Abschnitt „Innere Organe, Fettgewebe und Skelettmuskulatur“ behandelt worden. Der Mitralfluss zeigt keine signifikanten Unterschiede der Behandlungen zur Kontrolle.

Alle Behandlungsgruppen weisen eine signifikant größere Kontraktilität des linken Ventrikels (FS) als die Placebo-Gruppe auf, auch der end-systolische Durchmesser und daraus folgend das end-systolische Volumen sind tendenziell kleiner (s. Tab. 3.9). Der end-diastolische Durchmesser zeigt ein uneinheitliches Bild. Die hohen Dosierungen zeigen hier niedrigere Werte als die Placebo-Gruppe, dies deutet auf eine geringere Füllung des linken Ventrikels hin. Der Vergleich der Gruppen weist jedoch keine signifikanten Unterschiede auf. Mit der stärkeren Kontraktion geht eine bessere Herzauswurfleistung einher. Die Ejektionsfraktion (EF) ist entsprechend bei allen Behandlungsgruppen signifikant größer als bei der Placebo-Gruppe. Die bei ähnlichen Herzfrequenzen somit zu erwartenden größeren Herzminutenvolumina werden beobachtet, ohne dass dies jedoch Signifikanz erreicht (CO an Tag 11 Placebo: 32.75 ± 4.63 ml/min, Oxypurinol 4mg: 56.88 ± 10.91 ml/min).

Generell ist also auch bei den Parametern der Herzstruktur und hieraus folgend bei den Parametern der Herzfunktion ein positiver Effekt der Gabe von Inhibitoren der Xanthinoxidase zu verzeichnen (s. Tab. 3.9).

Dies deckt sich mit den Beobachtungen der Effekte von XO-Inhibitoren nach Infarkt, bei Reperfusionsschaden nach Ischämie, bei dilatativer Kardiomyopathie und bei Herzinsuffizienz an Ratte, Maus, Meerschwein, Hamster, Kaninchen, Hund, Schwein und auch am Menschen [182, 274]. Die Gabe von Allopurinol oder Oxypurinol bewirkte hier neben einem Rückgang der XO-Aktivität und daraus resultierend verringerten Spiegeln an ROS und Harnsäure auch eine Abmilderung der Dysfunktion des Herzens. Dies äußerte sich in verschiedenen Parametern wie verbesserter Kontraktilität des Herzens, somit höherer EF und verbesserter Herzfunktion, in verringerter Infarktgröße wie auch in einer verminderten Mortalität. Allerdings konnten nicht in allen Studien positive Effekte nachgewiesen werden [182]. Dies ist zum Teil auf einen Therapiebeginn nach Etablierung der Herzinsuffizienz zurückzuführen [275].

Ca²⁺-Sensitizer können laut den Therapie-Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie [234] bei vermindertem Herzzeitvolumen auf Basis einer systolischen Dysfunktion gegeben werden. Perez et al. [215] konnten eine Ca²⁺-sensibilisierende Wirkung von Allopurinol und Oxypurinol auf kardiale Myofilamente nachweisen. Sie untersuchten dies an durch kurze Phasen der Ischämie herbeigeführter verringerter Kontraktilität des Herzens der Ratte. Die Behandlung zeigte eine deutlich positiv inotrope Wirkung dieser XO-Inhibitoren. Dies trägt neben der Erhaltung der kontraktilen Elemente ebenfalls zur Verbesserung der Herzfunktion bei.

4.3.7 Resumée des Monotherapie Tumor-Versuchs

Die Behandlung von Ratten mit dem Yoshida AH-130 Hepatom mittels der Xanthinoxidase-Inhibitoren Allopurinol und Oxypurinol zeigt in nahezu allen untersuchten Parametern positive Effekte.

Alle Behandlungsgruppen begünstigen die Erhaltung von Körpergewicht und fettfreier Masse im Vergleich zur Placebo-Gruppe. Die Erhaltung der Gesamt-Fettmasse wird ebenfalls begünstigt oder zumindest nicht signifikant beeinträchtigt. Die Überlebensdauer ist verlängert, die Futtermenge erhöht und der Rückgang der Spontanaktivität gemildert. Die Menge der gebildeten Tumorflüssigkeit ist geringer,

die Anzahl der Tumorzellen allerdings erhöht. Das Gewicht des Herzens, aller untersuchten Skelettmuskeln, von Lunge, Milz, Leber und Niere sowie von retroperitonealem weißen und interskapulärem braunen Fett ist bei allen Behandlungsgruppen größer als bei der Placebo-Gruppe. Das Gewicht der Nebennieren aller Behandlungsgruppen ist geringer als bei der Placebo-Gruppe. Der weitaus überwiegende Teil der echokardiographisch erfassten Parameter zeigt Vorteile einer Behandlung mit XO-Inhibitoren in hoher wie niedriger Dosierung gegenüber der Placebo-Gruppe.

Wie bei anderen Tumoren [130, 131] geht auch das Wachstum des AH-130 Hepatoms mit einer Aktivitätserhöhung der Xanthinoxidase einher [259], hieraus resultiert ein Anstieg an ROS (s. Abb. 4.1). Oxidativer Stress ist eng assoziiert mit Muskelverlust bei Tumorerkrankung [106, 125]. Die Gabe von Xanthinoxidase-Inhibitoren ist mit einem Rückgang der Konzentrationen reaktiver Sauerstoffspezies verbunden [182].

Dies konnte durch die Arbeit von Frau Möller [259] aus der Arbeitsgruppe Anker auch an den im Versuch verwendeten Tieren nachgewiesen werden. Der Nachweis der gebildeten O_2^- -Radikale erfolgte hier mittels der EPR-Spintrap-Methode an aufgereinigten Leberproben. Hierbei werden Carboxyproxylradikale (CP^*) gemessen, diese sind der Menge der gebildeten Superoxidradikale äquivalent. Es zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Radikalproduktion bei den tumortragenden Ratten gegenüber gesunden Tieren (Placebo Sham: $3.23 \pm 0.99 \text{ nmol}/\mu\text{g } CP^*$, Placebo Tumor: $169.49 \pm 52.49 \text{ nmol}/\mu\text{g } CP^*$; Mittelwert \pm Standardfehler, $p < 0.01$). Dies ist auf eine erhöhte Aktivität der XO zurückzuführen, denn die Gabe der spezifischen XO-Inhibitoren Allopurinol und Oxypurinol bewirkte einen in allen Dosierungen signifikanten Rückgang dieser Produktion (Allopurinol 4mg: $38.23 \pm 5.67 \text{ nmol}/\mu\text{g } CP^*$, Allopurinol 40mg: $31.23 \pm 12.61 \text{ nmol}/\mu\text{g } CP^*$, Oxypurinol 4mg: $25.60 \pm 6.50 \text{ nmol}/\mu\text{g } CP^*$, Oxypurinol 40mg: $17.26 \pm 8.25 \text{ nmol}/\mu\text{g } CP^*$; jeweils $p < 0.05$). Die geringste Menge an O_2^- wurde bei Verabreichung der hohen Oxypurinol-Dosierung gemessen, gefolgt von Oxypurinol in der niedrigen Dosierung. Mit Allopurinol behandelte Tiere wiesen größere Mengen an gebildetem O_2^- auf als beide Dosierungen von Oxypurinol. Dies erklärt sich unter anderem aus der Tatsache, dass Oxypurinol ein nicht-kompetitiver Inhibitor der XO ist, während Allopurinol mit weiteren potentiellen Substraten um die Bindungsstelle des Enzyms konkurriert [182]. Zudem werden bei der Umwandlung von Allopurinol in Oxypurinol ebenfalls

Sauerstoffradikale gebildet [185]. Aber auch bei Allopurinol zeigte sich ein signifikanter Rückgang im Vergleich zur mit Placebo behandelten Gruppe. Allopurinol wies wie Oxypurinol eine positive Dosis-Wirkungs-Beziehung auf. Einer direkten Radikalfänger-Funktion dieser XO-Inhibitoren wird hier im Übrigen nur eine untergeordnete Rolle zugeschrieben [259].

Die hohe Dosierung von Oxypurinol weist im vorliegenden Versuch ungünstigere Effekte auf als Allopurinol in der gleichen Dosierung. 50-70% einer Allopurinol-Dosis werden beim Menschen in Form von Oxypurinol ausgeschieden, etwa 10% in Form von Allopurinol [183, 184]. Bedenkt man diese nicht vollständige Metabolisierung von Allopurinol und die unterschiedliche Intensität der inhibierenden Wirkung dieser beiden Stoffe [182], so wäre bei positiver Beeinflussung des körperlichen Zustandes durch XO-Inhibition ein gegenteiliges Bild zu erwarten. Die Ursache für diese inverse Dosis-Wirkungs-Beziehung ist möglicherweise in einer Überdosierung oder in einer Akkumulation von Oxypurinol im Organismus zu suchen [259]. Oxypurinol hat eine durch renale Rückresorption verlängerte Halbwertszeit (HWZ) von 14-30h, während Allopurinol eine HWZ von 2-3h aufweist [186]. Dies würde auch erklären, dass niedrig dosiertes Oxypurinol ebenfalls einen größeren positiven Effekt auf die in der vorliegenden Studie untersuchten Parameter zeigt als die hohe Dosierung.

Die Überlegenheit der niedrigen Dosierung von Oxypurinol gegenüber der hohen Dosierung von Allopurinol bei der Mehrzahl der im vorliegenden Versuch erhobenen Parameter könnte eine Folge der geringeren Produktion reaktiver Sauerstoffspezies sein [259]. Bei der Umwandlung von Allopurinol in seinen aktiven Metaboliten Oxypurinol entstehen O_2^- -Radikale [185]. Da 50-70% einer Allopurinol-Dosis in Form von Oxypurinol ausgeschieden werden, kann man die Dosierung Allopurinol 40mg/kg/d in ihrer Wirkung im Tier aber auch als mittlere Dosierung von Oxypurinol auffassen. Wie bereits erwähnt zeigt die hohe Dosierung Oxypurinol die geringsten positiven Effekte aller Behandlungsgruppen. Die Wirkung von Allopurinol 40mg äussert sich meist in Werten zwischen denen der niedrig und hoch dosierten Oxypurinol-Gruppe. Somit könnte auch hier, trotz der größeren Kapazität zur Verringerung der Sauerstoffradikal-Produktion verglichen mit der Gabe von Oxypurinol 4mg, bereits eine Überdosierung zum Ausdruck kommen.

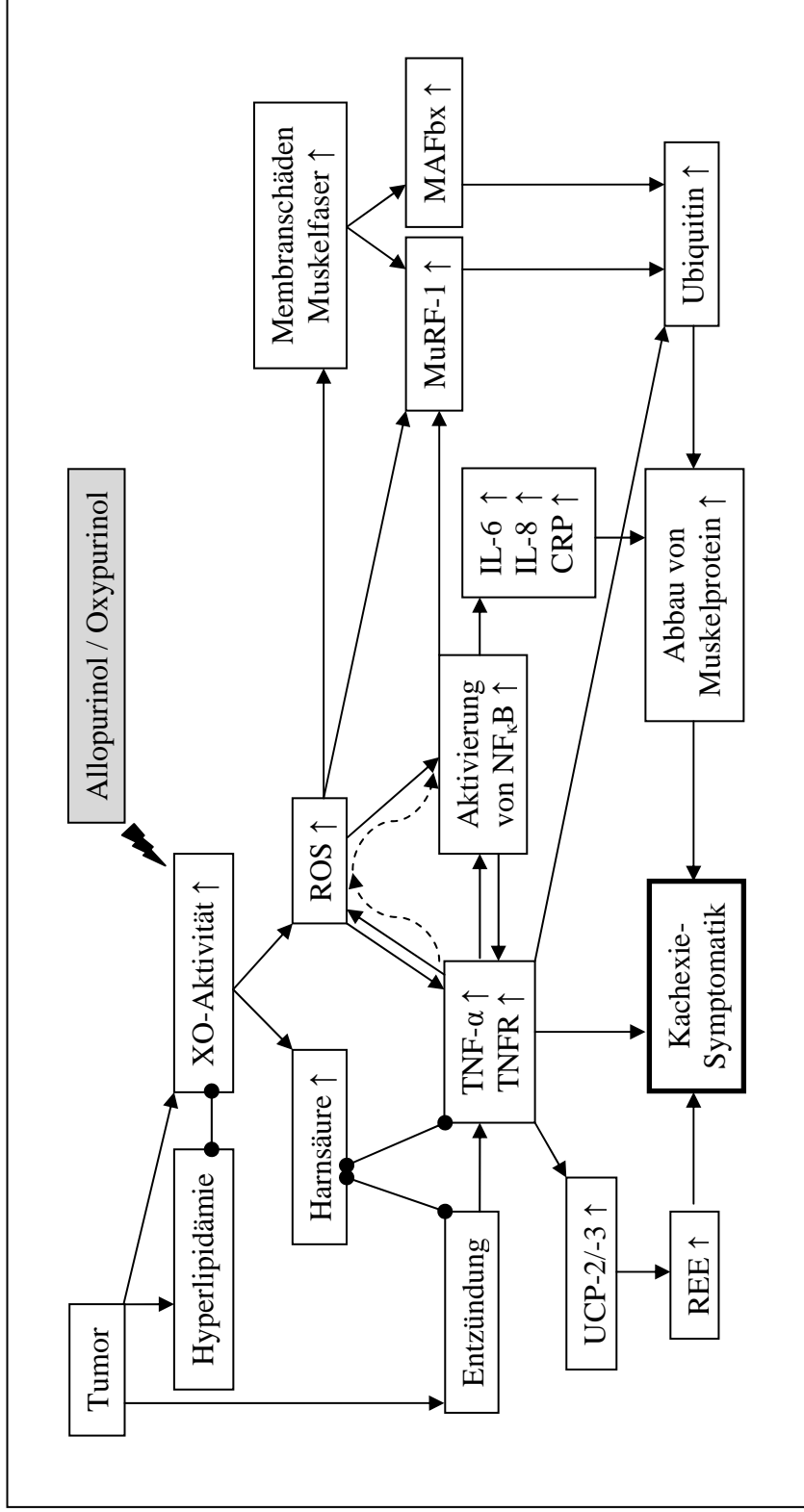


Abb. 4.1: Übersicht einiger Wirkmechanismen der Xanthinoxidase.

Gestrichelter Pfeil: Verbindung strittig [115, 267]. Verbundene Punkte: positiv korreliert [209, 266].

Volle Pfeile: Nachweis s. Literaturverzeichnis [36, 46, 90, 106, 109, 110, 115, 124, 130-133, 265, 276, 277].

XO=Xanthinoxidase, ROS=O₂-Radikale (reactive oxygen species), TNF-α=Tumor-Nekrose-Faktor α, TNFR=TNF-Rezeptor, UCP=Uncoupling Protein, REE=Ruheenergieumsatz (resting energy expenditure), NF_κB=Nukleärer Faktor kappa B, IL=Interleukin, CRP=C-reactives Protein, MuRF-1 und MAFbx=E₃-Ligasen

4 Diskussion

Die niedrige Allopurinol-Dosierung könnte demnach auch als sehr niedrige Oxypurinol-Gabe aufgefasst werden. Somit zeigt sich zwischen den Gruppen Allopurinol 4mg/kg/d und Oxypurinol 4mg/kg/d eine positive Dosis-Wirkungs-Beziehung sowohl die Bildung von Sauerstoffradikalen betreffend als auch in der systemischen Auswirkung.

Bei Patienten mit Tumoren des Gastrointestinaltraktes und auch bei tumortragenden Ratten und Mäusen wurden apoptotische Phänomene in der Skelettmuskulatur nachgewiesen [97, 134]. Auch eine (Inaktivitäts-)Atrophie der Muskulatur ist mit erhöhter Apoptose-Rate assoziiert [278]. Die Tiere der Tumor-Gruppen zeigen in der vorliegenden Studie einen deutlichen Rückgang der spontanen Aktivität (s. Tabellen 3.1 und 3.8 sowie Abbildung 3.13). Infolge apoptotischer Veränderungen werden verstärkt Purin-Nukleotide freigesetzt. Aufgrund der katabolen Stoffwechsellage darf vermutet werden, dass der Bedarf an Purinen zur Nukleinsäure-Synthese erniedrigt und dementsprechend der reutilisierte Anteil der anfallenden Purine ebenfalls verringert ist. Der nicht reutilisierte Anteil dieser freigesetzten Purine wird durch die Xanthinoxidase unter ROS-Produktion in Harnsäure umgewandelt [181, 182]. Dies würde zum bei Anwesenheit eines Tumors erhöhten oxidativen Stress beitragen. Das Ausmaß dieses Beitrags ist allerdings unklar. Das Wachstum des Tumors verursacht einen erhöhten Bedarf an Purinen, sodass der reutilisierte Anteil möglicherweise nicht verringert ist.

Auch werden infolge einer Gabe von Inhibitoren der Xanthinoxidase geringere Mengen an Harnsäure gebildet. Aufgrund deren Wirkung als endogenes „danger signal“ [203] geht die Verwendung dieser Stoffe daher auch mit einer verringerten Immunantwort des Körpers einher. Dies würde über eine verringerte Produktion pro-inflammatorischer Zytokine zu einer verminderten Aktivierung kataboler Stoffwechselwege führen [46]. Dies könnte somit zu einer Milderung der tumorbedingten Kachexie beitragen, wie sie an den im Versuch erhobenen Parametern abgelesen werden kann. Die Richtigkeit dieser Annahme könnte durch weitere Untersuchungen wie die Bestimmung der Plasma-Spiegel pro-inflammatorischer Zytokine, beispielsweise von TNF- α , unterstützt werden.

Nicht ausgeschlossen werden kann auch die Theorie einer Endotoxin-vermittelten Genese, oder zumindest der Beteiligung von Endotoxin (Lipopolysaccharid, LPS) an der Genese der Kachexie. Mit dem Rückgang der Herzmuskulatur entwickeln

sich Symptome einer Herzinsuffizienz (s. Kap. 4.1). Dies könnte, wie von Sandek et al. [20] vorgeschlagen, über eine Minderperfusion des Gastrointestinaltrakts dessen Barrierefunktion schädigen [279]. Der Übertritt gramnegativer Darmbakterien hätte über die Freisetzung von Endotoxin eine Entzündungsreaktion zur Folge. Vaughan et al. [217] konnten zeigen, dass die Gabe von Allopurinol Änderungen der intestinalen Permeabilität nach Ischämie und Reperfusion vorbeugen kann. Allopurinol wurde hier verabreicht in einer Dosierung von 10mg/kg/d über 1 Woche vor dem Eingriff. Eine bakterielle Translokation in Mesenterial-Lymphknoten, Leber und Milz konnte ebenso wie histologisch nachweisbare Schäden des Darmes in einem Versuch zu Ischämie-Reperfusionsschaden von Deitch et al. [218] durch Gabe von Allopurinol reduziert werden. Allopurinol in einer Dosierung von 50mg/kg/d reduzierte die Inzidenz bakterieller Translokation hier von 61% (Sham: 7%) statistisch signifikant auf 14%. In beiden Versuchen wurde die Minderperfusion nicht durch Herzinsuffizienz, sondern durch 20-minütige Okklusion der Mesenterialarterie (Vaughan) oder 30-minütigen Blutentzug („hämorrhagischer Schock“, Deitch) herbeigeführt.

Mackenzie et al. [280] konnten zeigen, dass die Gabe von LPS bei Vorhandensein von mit systemischem Entzündungsgeschehen einhergehenden Tumoren wie dem AH-130 Hepatom eine stärkere Aktivierung des Proteinabbaus bewirkte als aus den jeweiligen Einzelreaktionen zu vermuten wäre. Die Autoren verwendeten eine geringe Menge Endotoxin, von der sie keine oder minimale Auswirkungen auf den Proteinstoffwechsel erwarteten. Aufgrund der gezeigten Effekte schlossen sie auf eine verstärkte Sensitivität des Wirtstieres gegenüber einem zweiten pro-inflammatorischen Stimulus, und dementsprechend auf eine gegenseitige Potenzierung der Wirkung dieser Proteolyse-induzierenden Noxen. Auch im vorliegenden Versuch könnte sich dies infolge eines Übertritts von Darmbakterien ereignet haben. Möglicherweise wurde aber auch durch die zusätzliche Gabe von Endotoxin im Versuch von Mackenzie et al. [280] ein bereits „endogen“ erzeugter LPS-Spiegel (als Folge einer tumor-assoziiert erhöhten Darmpermeabilität) über einen Schwellenwert gehoben. Somit wäre dies in der vorliegenden Studie wahrscheinlich nicht erreicht worden.

Ob die hier beobachteten Veränderungen der Herzfunktion ausreichen, um über Minderperfusion des Darmes eine Freisetzung von Endotoxin hervorzurufen müsste, etwa mittels LPS-Nachweis im Blut, untersucht werden. Durch die Gabe von XO-

Inhibitoren wäre ein solches Phänomen der bakteriellen Translokation, falls vorhanden, sehr wahrscheinlich verhindert oder deutlich abgeschwächt worden. Eine solche Wirkung könnte demnach an den beobachteten positiven Effekten der untersuchten Medikationen beteiligt sein.

Möglicherweise sind an den beobachteten Auswirkungen der Behandlung auch weitere Effekte dieser Xanthinoxidase-Inhibitoren wie ihre Eigenschaft als direkte Radikalfänger und als Chelatbildner (mit Kupfer), die Hemmung der Peroxidation auch von Nicht-Membran-Lipiden und ein Einfluss auf die Aktivität des „heat shock factor“ mitbeteiligt [182]. ROS-vermittelte Induktion dieses Transkriptionsfaktors und nachfolgende Expression der Hitzeschock-Proteine kann zur Aktivierung von NF κ B führen und somit auch die inflammatorische Reaktion modulieren [281].

Die Tiere der mit Oxypurinol 40mg behandelten Gruppe zeigen sowohl für die Verluste an Gesamtgewicht, fettfreier Masse und Fettmasse wie auch für sämtliche Organgewichte und die Futteraufnahme einen tendenziellen, aber meist nicht signifikanten Vorteil gegenüber der Placebo-Gruppe (s. Tab. 3.7 und 3.8). Beide Dosierungen von Allopurinol weisen stets, und meist signifikant, bessere Ergebnisse für die untersuchten Parameter auf als die Placebo-Gruppe. Die Gabe von Allopurinol in hoher wie niedriger Dosierung ist der Gabe hoch dosierten Oxypurinols überlegen. Allopurinol 40mg zeigt leichte Vorteile bezüglich der Erhaltung von Körpergewicht, fettfreier Masse und Fettmasse, weißem und braunem Fett und Spontanaktivität gegenüber Allopurinol 4mg, leichte Nachteile jedoch bei der Erhaltung der Skelettmuskulatur.

Oxypurinol 4mg zeigt von allen Gruppen jedoch die beste Erhaltung an Gesamtgewicht, fettfreier Masse, Fettmasse, Gewicht der untersuchten Skelettmuskeln, des weißen und braunen Fettgewebes wie auch den geringsten Rückgang bei Futteraufnahme und Spontanaktivität (s. Tab. 3.7 und 3.8). Die Gabe von Oxypurinol 4mg ist die einzige Behandlung, welche auch mit einem signifikant höheren Gewicht des M. soleus im Vergleich zur Placebo-Gruppe einhergeht. Die Herzfunktion wird ebenfalls positiv beeinflusst (s. Tab. 3.9), die Tiere der Gruppe Oxypurinol 4mg weisen das höchste Herzminutenvolumen aller untersuchten Gruppen auf ($p=0.0772$ Mann-Whitney-Test vs. Placebo Tumor).

Die Behandlung mit Oxypurinol in einer Dosierung von 4mg/kg/d stellt somit die effektivste der untersuchten Medikationen dar.

4.4 Kombinationstherapie Tumor-Versuch

Im folgenden Abschnitt sollen die Effekte einer kombinierten Gabe von Bisoprolol und Oxypurinol der Behandlung mit Placebo und der monotherapeutischen Gabe dieser Wirkstoffe gegenübergestellt werden.

Ziel dieses Versuchs war die Evaluation möglicher Synergie-Effekte einer Inhibition der Xanthinoxidase mit einer Blockade der β_1 -Adrenozeptoren. β_1 -Blocker sind Teil der Therapie einer Herzinsuffizienz [234]. In der vorliegenden Studie geht das Tumorwachstum mit Anzeichen einer solchen einher (s. Kap. 4.1). Eine β_1 -Blockade verringert die REE, und für kachektische Herzinsuffizienz-Patienten konnte durch Hryniewicz et al. [227] ein Zusammenhang zwischen der Behandlung mit β_1 -Blockern und einer Gewichtszunahme hergestellt werden. Eine Aktivierung des Sympathikus berichten Anker et al. [137] für kardiale Kachexie beim Menschen ebenso wie Tessitore et al. [54] für Ratten mit Tumorkachexie.

Als effektivste Dosierung für die Hemmung der Xanthinoxidase wurde im Monotherapie-Versuch die Gabe von Oxypurinol 4mg/kg/d ermittelt. In einem hier nicht dargestellten Vorversuch der Arbeitsgruppe Anker zeigte für die angestrebte β_1 -Blockade Bisoprolol in einer Dosierung von 5mg/kg/d die vorteilhafteste Wirkung. Bei Vorhandensein deutlicher Synergismen sollte zumindest die kombinierte Gabe von jeweils 75% der Einzelmedikationen Ergebnisse erzielen, die denen der monotherapeutischen Verabreichung dieser Wirkstoffe annähernd gleichwertig sind.

4.4.1 Tumorwachstum

Die Behandlungsgruppen zeigen weder untereinander noch zur Placebo-Gruppe signifikante Abweichungen in der Menge der gebildeten Tumorflüssigkeit (s. Abb. 3.15). Tendenziell scheinen die Monotherapien hier einen Vorteil gegenüber der Kombination zu bieten. Dies könnte darauf hindeuten, dass therapeutische Wirkspiegel durch die Kombinationstherapie nicht erreicht werden und keine oder nur geringfügige synergistische Effekte auftreten. Die mit Bisoprolol behandelten Tiere zeigen die niedrigste mittlere Tumormenge. Über die negativ chrono-, dromo- und inotrope Wirkung am Herzen sowie die Blockade der Renin-Freisetzung am juxtaglomerulären Apparat der Niere wird durch β_1 -Blocker eine Senkung des Blutdrucks erzielt [222]. Möglicherweise ist eine Hypertonie an der Ausprägung des Aszites

beteiligt. Dagegen spricht, dass keine weiteren Anzeichen von Ödembildung gefunden wurden. Der Tumorzitotaxin ist vermutlich entzündlicher Natur.

Die Tiere aller Behandlungsgruppen weisen im Vergleich mit der Placebo-Gruppe leicht (Gruppe Kombination 25%) bis deutlich (Monotherapien und Gruppe Kombination 75%) höhere Werte für die Gesamtzahl an Tumorzellen auf (s. Abb. 3.16). Die Ursache für diese Begünstigung des Wachstums ist unbekannt. Eine höhere Gesamtzahl an Tumorzellen geht, wie nachfolgend noch gezeigt wird, nicht mit negativeren Effekten auf die übrigen untersuchten Parameter einher. Das Ausmass des tumor-assoziierten Stoffwechsel-Katabolismus und anderer Effekte ist demnach nicht proportional zur Anzahl der vorhandenen Tumorzellen.

Somit scheint die Ausprägung der Kachexie größtenteils durch die Reaktion des „Wirt“-Körpers verursacht zu werden. Alternativ wäre denkbar, dass von den Tumorzellen sezernierte Mediatoren früh einen gewissen Schwellenwert überschreiten, ab welchem eine Kachexie induziert wird.

4.4.2 Überleben

Beide Kombinationsgruppen zeigen eine zwar tendenziell, aber nicht signifikant bessere Überlebenswahrscheinlichkeit im Vergleich zur Behandlung mit Placebo (s. Abb. 3.17 und Tab. 3.10). Die Monotherapien dagegen weisen beide einen signifikant positiven Effekt auf die Überlebenswahrscheinlichkeit auf. Bisoprolol ist fester Bestandteil einer Therapie der symptomatischen Herzinsuffizienz [234], welche ebenfalls die Gesamtsterblichkeit senkt.

Da beide Gruppen der Kombinationstherapie deutlich schlechtere Werte für die Überlebenswahrscheinlichkeit aufweisen als die Monotherapien, scheinen hier kaum synergistische Effekte aufzutreten. Es zeigt sich die Tendenz zu einer positiven Dosis-Wirkungs-Beziehung bei den Kombinationsgruppen. Durch die Gabe von nur 25% oder 75% der als effektiv erkannten Medikationen wurde somit möglicherweise eine Unterdosierung erzielt, welche nicht therapeutisch optimale Wirkspiegel erreicht.

4.4.3 Gewicht und Körperzusammensetzung

Die Beurteilung des Gesamtgewichts zum Endzeitpunkt ist schwierig, da drei der vier Behandlungsgruppen bereits zu Versuchsbeginn signifikant schwerer waren als die Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.18). Dies gilt nicht für Bisoprolol 5mg, die Tiere dieser Gruppe weisen ein signifikant höheres Körpergewicht zum Ende des Versuchs auf. Bisoprolol ist also in der Lage, das Gesamtgewicht deutlich positiv zu beeinflussen. Dies gilt auch für die Behandlung mit Oxypurinol 4mg, wie der Gewichtsverlust über den Versuchszeitraum zeigt (s. Abb. 3.20). Hier, wie auch bei dem Parameter Gewichtsverlust pro Tag, weist die Behandlung mit Oxypurinol 4mg einen signifikanten Vorteil gegenüber der Gabe von Placebo auf und zeigt sich den übrigen Behandlungen tendenziell überlegen. Die hochdosierte Kombination zeigt ein ähnliches Bild. Die Erhaltung des Körpergewichts ist hier nicht so stark ausgeprägt wie bei der Oxypurinol-Gruppe. Die niedrig dosierte Gabe der kombinierten Medikamente weist den tendenziell schlechtesten Effekt auf und zeigt weder zur Placebo-Gruppe ($p=0.0831$ t-Test vs. Placebo Tumor) noch zu den übrigen Behandlungsgruppen einen signifikanten Unterschied im gesamten Gewichtsverlust. Im täglichen Verlust an Körpergewicht jedoch zeigt sich diese Behandlung aufgrund der längeren mittleren Überlebenszeit der Gabe von Placebo signifikant überlegen (s. Abb. 3.21).

Auch im Kombinations-Versuch zeigen sich die Parameter „Gesamtgewicht“ und „fettfreie Masse“ eng verknüpft. Stellt man die Erhaltung dieser Parameter prozentual dar, also den Anteil des Endwertes am Ausgangswert, so unterscheiden sich beide Parameter nur um maximal 1% innerhalb einer Gruppe (s. Tab. 3.11). Bei der Entwicklung der fettfreien Masse bietet sich demnach ein ähnliches Bild wie bei der Entwicklung des Gesamtgewichts. Während die Gabe von Oxypurinol 4mg mit einer Erhaltung dieser Parameter von deutlich über 90% einhergeht und die Gruppe Bisoprolol 5mg hier Werte um 90% aufweist, vermögen die Kombinations-Gruppen nur 80-83% („Kombination 25%“: 80-81%, „Kombination 75%“: 82-83%) an fettfreier Masse und Gesamtgewicht zu erhalten. Die Gruppe Kombination 25% zeigt weder im gesamten noch im täglichen Verlust ($p=0.0905$ t-Test vs. Placebo Tumor) an fettfreier Masse einen signifikanten Unterschied zur Placebo-Gruppe. Die fettfreie Masse zu Versuchsende ist bei dieser Gruppe zwar signifikant größer als bei Placebo-Gabe, dieser Unterschied besteht jedoch bereits zu Versuchsbeginn. Die

Tiere der Gruppe Kombination 75% zeigen signifikant höhere Werte für die Erhaltung der fettfreien Masse insgesamt und pro Tag, verglichen mit der Placebo-Gruppe (s. Abb. 3.22 und 3.23). Gleiches gilt für beide Monotherapien. Diese zeigen tendenzielle Vorteile gegenüber der Gruppe Kombination 75%, ohne dass dies statistische Signifikanz erreicht.

Während beide Monotherapie-Gruppen eine signifikante Erhaltung der Fettmasse bewirken, ist ein solcher Effekt bei den Kombinations-Gruppen nur in der Tendenz ausgeprägt und erreicht keine statistische Signifikanz (s. Abb. 3.24 und 3.25). Dennoch weisen beide Kombinations-Gruppen höhere Werte für die Fettmasse zum Ende des Versuchs auf als die Placebo-Gruppe. Im Fall der Gruppe Kombination 75% erreicht dies statistische Signifikanz, allerdings weist diese Gruppe bereits zu Beginn des Versuchs ein deutlich größere Fettmasse auf als die Placebo-Gruppe (s. Tab. 3.11). Bisoprolol 5mg vermag dem Abbau von Fettgewebe am deutlichsten entgegenzuwirken, die Tiere dieser Behandlungsgruppe weisen gegen Ende des Versuchs noch 72% der anfangs vorhandenen Fettmasse auf. Die Fett-erhaltende Wirkung von Oxypurinol 4mg ist leicht schwächer (66%), doch immer noch deutlich ausgeprägter als die der Kombinations-Gruppen. Diese vermögen noch etwa 50% der anfänglich vorhandenen Fettmasse zu erhalten und zeigen somit keinen statistisch signifikanten Unterschied zur Placebo-Gruppe.

In der Entwicklung von fettfreier Masse und Gesamtgewicht weist die Gabe der höher dosierten Kombination tendenziell leichte Vorteile gegenüber der niedrigeren Dosierung auf, hier deutet sich somit eine positive Dosis-Wirkungs-Beziehung an. Bei dem Parameter „Fettmasse“ dagegen zeigen beide Dosierungen der kombinierten Medikation etwa den gleichen Effekt, im gesamten Verlust an Fettmasse über den Versuchszeitraum scheint sich die höhere Dosierung sogar nachteiliger auszuwirken. Allerdings erreichen diese Unterschiede keine statistische Signifikanz. Angesichts der Tatsache, dass die hohe Dosierung immerhin 75% der monotherapeutischen Dosierungen enthält, deutet die Entwicklung bei Körpergewicht und den Parametern der Körperzusammensetzung nicht nur auf fehlende Synergie-Effekte. Die Medikation Kombination 75% enthält 3mg Oxypurinol pro kg Körpergewicht und Tag. Die im Monotherapieversuch (s. Kap. 3.3 und 4.3) durchgeführte Behandlung mit Allopurinol 4mg sollte durch Metabolisierung des Wirkstoffs im Körper mindestens einer Menge von 2mg Oxypurinol entsprechen [183, 184]. Allopurinol 4mg

vermochte trotz der Entstehung von Sauerstoffradikalen [185] bei dieser Umwandlung 86% von anfänglichem Körpergewicht und fettfreier Masse zu erhalten (s. Tab. 3.8). Die Gruppe Kombination 75% zeigt hier eine Erhaltung von 82-83% (s. Tab. 3.11). In dieser Hinsicht scheint die kombinierte Gabe von Oxypurinol und Bisoprolol Nachteile gegenüber einer monotherapeutischen Medikation aufzuweisen.

4.4.4 Innere Organe, Fettgewebe und Skelettmuskulatur

Alle Behandlungen zeigen eine größere Erhaltung des Organgewichts von Herz, Lunge, Milz, Leber und Niere sowie von retroperitonealem weißen und interskapulärem braunen Fett im Vergleich zur Gabe von Placebo, ohne dass dies in allen Fällen statistische Signifikanz erreicht (s. Tab. 3.12).

Die mit der niedrig dosierten Kombination behandelten Tiere zeigen weder für das Herz noch für Lunge, Milz, Leber, Niere oder retroperitoneales weißes Fett signifikante Unterschiede zur Placebo-Gruppe. Das braune Fettgewebe ist hier signifikant schwerer als bei der Placebo-Gruppe. Die hoch dosierte Kombination zeigt ebenso wie die Gabe von Oxypurinol 4mg größere Gewichte von Milz und weißem Fettgewebe, während Herz, Lunge, Leber, Niere und braunes Fett keinen signifikanten Unterschied zur Placebo-Gruppe aufweisen. Oxypurinol 4mg zeigt eine signifikante Erhaltung von braunem Fettgewebe, verglichen mit der Placebo-Gruppe. Die Gabe von Bisoprolol 5mg geht einher mit signifikant höheren Werten für das Gewicht der Milz und von weißem wie auch braunem Fettgewebe. Das Gewicht des Herzens ist hier deutlich höher als bei der Placebo-Gruppe und den Kombinations-Gruppen.

Die Nebennieren der Kombinations-Gruppen sind tendenziell schwerer als die der Placebo-Gruppe und signifikant schwerer als die der Monotherapie-Gruppen. Offensichtlich ist sowohl die hoch wie auch die niedrig dosierte Kombinationsmedikation nicht in der Lage, einen hemmenden Einfluss auf das Gewicht der Nebenniere zu nehmen.

Die Gruppe Kombination 25% zeigt signifikant größere Gewichte für die Mm. gastrocnemius und tibialis, der M. EDL zeigt hier keinen signifikanten Unterschied zur Placebo-Gruppe. Der M. soleus ist tendenziell leichter als bei der Placebo-Gruppe und signifikant leichter als bei den Gruppen Kombination 75% und Oxypurinol 4mg. Die mit Bisoprolol 5mg behandelten Tiere zeigen tendenziell größere Gewichte für diese Muskeln als die Placebo-Gruppe, dies erreicht im Falle der Mm.

gastrocnemius und tibialis statistische Signifikanz. Die Gruppen Kombination 75% und Oxypurinol 4mg zeigen für alle untersuchten Skelettmuskeln signifikant höhere Werte als die Placebo-Gruppe.

Auch hier zeigt sich, dass die hohe Dosierung der Kombination der niedrigen überlegen ist. Diese zeigt geringere Vorteile in der Erhaltung der Organe, des weißen Fettgewebes und der Muskeln als die Monotherapien und die hoch dosierte Kombination. Nur in der Erhaltung des braunen Fettgewebes ist die Gabe der Kombination 75% nachteiliger als die der niedrigen Dosierung.

Bisoprolol hat einen mit der Gabe von Oxypurinol vergleichbaren Einfluss auf innere Organe und Fettgewebe, ohne dessen Vorteile bei der Erhaltung der Skelettmuskulatur aufzuweisen. Die Gabe der hoch dosierten Kombination wiederum hat ähnliche Wirkung wie die Gabe von Oxypurinol 4mg in Bezug auf innere Organe und Skelettmuskulatur, ohne dessen positiven Einfluss auf die Erhaltung von weißem und braunem Fettgewebe zu zeigen.

4.4.5 „Quality of life“

Die Monotherapie-Gruppen und die Gruppe der hoch dosierten Kombinationstherapie zeigen signifikant höhere Werte für die Futteraufnahme an Tag 10 als die Placebo-Gruppe, während dies bei den Tieren der Gruppe Kombination 25% nicht der Fall ist. Die Monotherapien zeigen sich tendenziell den Kombinationstherapien überlegen (s. Tab. 3.12). Ein ähnliches Bild bietet die Entwicklung der Spontanaktivität. Hier erreicht keine der beiden Kombinationsgruppen eine signifikante Verbesserung gegenüber der Placebo-Gruppe. Die Monotherapien hingegen bewirken eine signifikante Erhaltung der Spontanaktivität im Vergleich zur Gabe von Placebo. Somit vermögen beide Dosierungen der Kombinationstherapie keinen der monotherapeutischen Gabe von Oxypurinol oder Bisoprolol vergleichbaren positiven Effekt hervorzurufen. Sie zeigen gleichwohl auch hier ein positives Dosis-Wirkungs-Verhältnis.

4.4.6 Echokardiographie

An Tag 11 zeigen die diastolischen Wandstärken von Septum und ventrikulärer Hinterwand keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Gruppen (s. Tab. 3.13). Dies gilt auch für den end-diastolischen Durchmesser des Ventrikels. In der Systole dagegen weist die Gruppe Kombination 25% im Vergleich zur Gruppe Oxypurinol 4mg eine signifikant geringere Stärke der Hinterwand auf. Gleiches gilt für Septum und Hinterwand der Gruppe Kombination 75%. Im Vergleich zur Placebo-Gruppe und zur Gruppe Bisoprolol 5mg zeigen sich hier keine signifikanten Unterschiede. Entsprechend zeigt die ventrikuläre Masse der Kombinations-Gruppen keine signifikanten Unterschiede zur Placebo-Gruppe, während die Monotherapie-Gruppen hier signifikant höhere Werte aufweisen.

Mit den geringeren Wandstärken geht eine verminderte Kontraktion einher. Der end-systolische Durchmesser der Kombinations-Gruppen, der Bisoprolol-Gruppe und der Placebo-Gruppe ist größer als bei der mit Oxypurinol behandelten Gruppe. Mit Ausnahme der niedrig dosierten Kombination ist dies bei allen genannten Gruppen signifikant. Die Verkürzungsfraktion (FS) zeigt bei den Kombinationstherapien keinen signifikanten Unterschied zu den anderen Gruppen. Die Gabe von Oxypurinol zeigt sich hier der Placebo-Gruppe und der Behandlung mit Bisoprolol signifikant überlegen. Auswurfsfraktion (EF) und Herzminutenvolumen (CO) zeigen hingegen, wie auch der Mitralfloss, keine signifikanten Unterschiede.

Die Kombinationstherapie hat somit in hoher wie niedriger Dosierung keinen signifikanten Einfluss auf die Erhaltung der Herzstruktur und zeigt sich den Monotherapien unterlegen. Die Parameter, welche Aussagen über Kammerkontraktion und Herzleistung erlauben, zeigen bei den Kombinations-Gruppen leicht höhere Werte als bei Bisoprolol, ohne die Werte von Oxypurinol zu erreichen.

Dass Bisoprolol niedrige Werte für die Parameter der Kontraktilität und nachfolgend der Herzleistung aufweist, erklärt sich aus der negativen Wirkung dieses β_1 -Blockers auf Inotropie und Chronotropie des Herzens. Ein positiver Einfluss von Bisoprolol kann daher an der Erhaltung der Wandstärken, der linksventrikulären Masse wie auch des Herzgewichtes festgemacht werden. Dies ist wahrscheinlich auf eine Reduktion der REE zurückzuführen.

4.4.7 Resumée des Kombinationstherapie Tumor-Versuchs

Durch die gleichzeitige Gabe von Bisoprolol und Oxypurinol wurde versucht, die Vorteile einer Senkung des Energieverbrauchs mit denen einer Reduktion der Xanthinoxidase-Aktivität zu verbinden und eventuell vorhandene Synergien auszunutzen. Weiterhin bestand der Verdacht, dass die Entwicklung von Anzeichen einer Herzinsuffizienz durch die tumortragenden Tiere zum Kachexie-Geschehen beitragen könnte. Dies würde durch die Gabe von Bisoprolol unterbunden.

Oxypurinol hat, wie sich im Monotherapie-Versuch herausgestellt hat, eine deutliche Erhaltung der Herzfunktion bewirkt (s. Kap. 4.3.6). Dies wurde durch eine verbesserte Erhaltung der Ventrikelmuskulatur vermittelt (s. Tab 3.9) und wahrscheinlich durch eine positiv inotrop wirkende, Ca^{2+} -sensitivierende Funktion verstärkt [215]. Die Senkung des Energieverbrauchs bei Gabe von Bisoprolol hingegen wirkt unter anderem über eine Reduktion der Inotropie des Herzens [222]. Somit standen sich diese beiden Wirkmechanismen entgegen, synergistische Effekte konnten hier nicht auftreten. Die kombinierte Medikation zeigt ein entsprechendes Bild. Die Überlegenheit der Kombinationstherapie gegenüber der Gabe von Placebo wäre somit zum größten Teil auf die Wirkung der XO-Inhibition zurückzuführen.

Bisoprolol vermag jedoch auch über andere Mechanismen als die Beeinflussung der Inotropie einer Herzinsuffizienz entgegenzuwirken und somit die Entwicklung tumortragender Tiere positiv zu beeinflussen. Hierzu zählt eine negativ chronotrope Wirkung [222]. Die resultierende Bradykardie geht mit einer Diastolenverlängerung einher, welche eine verbesserte Füllung des Ventrikels bewirkt. Über den höheren end-diastolischen Druck kommt es zu einer Erhöhung des Schlagvolumens (Frank-Starling-Mechanismus). Auch verhindert eine β_1 -Blockade Katecholamin-vermittelte Nekrose und Apoptose von Kardiomyozyten [282] und neutralisiert die allgemein erhöhte Aktivität von β_1 -Adrenozeptoren bei Tumorerkrankung [179]. Bisoprolol zeigt die stärkste Erhaltung an Fettgewebe aller untersuchten Medikationen (s. Tab. 3.7 und 3.11). Der bei tumortragenden Tieren erhöhte Sauerstoffverbrauch in Ruhe wird durch Bisoprolol reduziert [233, 240]. Alle diese Mechanismen sind aber offensichtlich nicht ausreichend, um in der vorliegenden Studie deutliche Synergie-Effekte zu bewirken. Sie könnten dennoch an der Ausprägung des Gesamtbildes beteiligt sein.

Die Medikation in der Kombinationstherapie der vorliegenden Studie wurde mit 25% und 75% der als effektiv erkannten Dosierungen durchgeführt. In den untersuchten Dosierungen konnten keine wirksamen synergistischen Effekte einer solchen kombinierten Medikation mit Oxypurinol und Bisoprolol nachgewiesen werden. Es ist aber nicht auszuschliessen, dass die kombinierte Gabe dieser Wirkstoffe in der jeweils als effektiv erkannten Dosierung positive Wirkungen auf das kachektische Geschehen bei Tumorerkrankung zeigt, die über das Maß der Einzelmedikation hinausgehen.

5 Zusammenfassung

Die zur Entstehung einer Kachexie bei Tumorerkrankung führenden Signalwege sind noch nicht vollständig verstanden. In diesem Zusammenhang wurde eine erhöhte Aktivität des Enzyms Xanthinoxidase berichtet, welche über eine Steigerung der Produktion reaktiver Sauerstoffspezies ursächlich an der Entwicklung dieses Geschehens beteiligt sein könnte. In der vorliegenden Studie wurden die Effekte einer Medikation mit den Xanthinoxidase-Inhibitoren Allopurinol und Oxypurinol auf die Ausprägung einer induzierten Tumorkachexie bei Ratten untersucht. Sodann wurde die kombinierte Gabe von Oxypurinol mit dem β_1 -Adrenozeptoren-Inhibitor Bisoprolol in gleicher Weise untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass die Gabe der Xanthinoxidase-Inhibitoren in einer deutlichen Attenuierung der tumor-assoziierten Kachexie resultiert. Auch wurden positive Effekte in Bezug auf die Erhaltung der Herzfunktion sowie eine Verbesserung des Allgemeinbefindens beobachtet. Die Gabe von Oxypurinol in einer Dosierung von 4mg/kg/d zeigte sich den anderen Medikationen überlegen. In der Kombination mit Bisoprolol wurden keine synergistischen Effekte beobachtet.

Die Inhibition der Xanthinoxidase ist geeignet, bei Ratten mit Yoshida AH-130 Hepatom die Ausprägung einer Kachexie abzuschwächen und den Krankheitsverlauf positiv zu beeinflussen. Zur Ermittlung der besten Dosierung müssten weitere Untersuchungen erfolgen.

6 Summary

Influence of xanthine oxidase inhibitors allopurinol and oxypurinol on the course of body weight, on body composition and spontaneous activity in a rat model of tumour cachexia

The pathways involved in the pathogenesis of tumor-associated cachexia are not yet fully understood. A higher activity of the enzyme xanthine oxidase was reported in this context, which could play a causative role in the course of events by raising the production of reactive oxygen species. In this thesis, the effects of medication with xanthine oxidase inhibitors allopurinol and oxypurinol on the extent of induced tumour cachexia in rats have been investigated. A combined medication of oxypurinol and β_1 -adrenoceptor inhibitor bisoprolol was analysed likewise.

A considerable attenuation of tumour-associated cachexia resulting from medication with xanthine oxidase inhibitors could be shown. Additionally, positive effects regarding the preservation of heart function and an improvement in general condition have been observed. Administration of 4mg/kg/d of oxypurinol turned out to be superior to the other medications used. When combined with bisoprolol, no synergistic effects were found.

Inhibition of xanthine oxidase is suitable for attenuating the extent of cachexia in rats with Yoshida AH-130 hepatoma and for positively influencing the course of disease. In order to evaluate the best dosage, further studies have to be conducted.

7 Literaturverzeichnis

1. Morley, J.E., W. Evans, and S.D. Anker. *Definition and diagnosis of cachexia / wasting disease*. in *4th Cachexia Conference*. 2007. Tampa, Florida, USA.
2. Baracos, V.E., *Cancer-associated cachexia and underlying biological mechanisms*. *Annu Rev Nutr*, 2006. **26**: p. 435-61.
3. Kotler, D.P., *Cachexia*. *Ann Intern Med*, 2000. **133**(8): p. 622-34.
4. Shike, M., et al., *Changes in body composition in patients with small-cell lung cancer. The effect of total parenteral nutrition as an adjunct to chemotherapy*. *Ann Intern Med*, 1984. **101**(3): p. 303-9.
5. Kotler, D.P., J. Wang, and R.N. Pierson, *Body composition studies in patients with the acquired immunodeficiency syndrome*. *Am J Clin Nutr*, 1985. **42**(6): p. 1255-65.
6. Toth, M.J., et al., *Daily energy expenditure in free-living heart failure patients*. *Am J Physiol*, 1997. **272**(3 Pt 1): p. E469-75.
7. Mitch, W.E., *Robert H Herman Memorial Award in Clinical Nutrition Lecture, 1997. Mechanisms causing loss of lean body mass in kidney disease*. *Am J Clin Nutr*, 1998. **67**(3): p. 359-66.
8. Gordon, J.N., S.R. Green, and P.M. Goggin, *Cancer cachexia*. *Qjm*, 2005. **98**(11): p. 779-88.
9. Tisdale, M.J., *Cancer cachexia*. *Langenbecks Arch Surg*, 2004. **389**(4): p. 299-305.
10. Muscaritoli, M., et al., *Prevention and treatment of cancer cachexia: new insights into an old problem*. *Eur J Cancer*, 2006. **42**(1): p. 31-41.
11. Anker, S.D., et al., *Wasting as independent risk factor for mortality in chronic heart failure*. *Lancet*, 1997. **349**(9058): p. 1050-3.
12. Kotler, D.P., et al., *Magnitude of body-cell-mass depletion and the timing of death from wasting in AIDS*. *Am J Clin Nutr*, 1989. **50**(3): p. 444-7.
13. Tisdale, M.J., *Cachexia in cancer patients*. *Nat Rev Cancer*, 2002. **2**(11): p. 862-71.
14. Dewys, W.D., et al., *Prognostic effect of weight loss prior to chemotherapy in cancer patients*. *Eastern Cooperative Oncology Group*. *Am J Med*, 1980. **69**(4): p. 491-7.
15. Monitto, C.L., et al., *Differential gene expression in a murine model of cancer cachexia*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001. **281**(2): p. E289-97.
16. Fearon, K.C., *The Sir David Cuthbertson Medal Lecture 1991. The mechanisms and treatment of weight loss in cancer*. *Proc Nutr Soc*, 1992. **51**(2): p. 251-65.
17. Inui, A., *Cancer anorexia-cachexia syndrome: current issues in research and management*. *CA Cancer J Clin*, 2002. **52**(2): p. 72-91.
18. Rubin, H., *Cancer cachexia: its correlations and causes*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003. **100**(9): p. 5384-9.
19. Tisdale, M.J., *Pathogenesis of cancer cachexia*. *J Support Oncol*, 2003. **1**(3): p. 159-68.

20. Sandek, A., et al., *The emerging role of the gut in chronic heart failure*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2008. **11**(5): p. 632-9.
21. DeWys, W.D., *Anorexia as a general effect of cancer*. *Cancer*, 1979. **43**(5 Suppl): p. 2013-9.
22. Davis, M.P., et al., *Appetite and cancer-associated anorexia: a review*. *J Clin Oncol*, 2004. **22**(8): p. 1510-7.
23. Evans, W.K., et al., *Limited impact of total parenteral nutrition on nutritional status during treatment for small cell lung cancer*. *Cancer Res*, 1985. **45**(7): p. 3347-53.
24. Loprinzi, C.L., et al., *Body-composition changes in patients who gain weight while receiving megestrol acetate*. *J Clin Oncol*, 1993. **11**(1): p. 152-4.
25. Chance, W.T., et al., *Assessment of feeding response of tumor-bearing rats to hypothalamic injection and infusion of neuropeptide Y*. *Peptides*, 1996. **17**(5): p. 797-801.
26. Makarenko, I.G., et al., *Decreased NPY innervation of the hypothalamic nuclei in rats with cancer anorexia*. *Brain Res*, 2003. **961**(1): p. 100-8.
27. Inui, A., *Cancer anorexia-cachexia syndrome: are neuropeptides the key?* *Cancer Res*, 1999. **59**(18): p. 4493-501.
28. Langhans, W. and B. Hrupka, *Interleukins and tumor necrosis factor as inhibitors of food intake*. *Neuropeptides*, 1999. **33**(5): p. 415-24.
29. Laviano, A., et al., *Neurochemical mechanisms for cancer anorexia*. *Nutrition*, 2002. **18**(1): p. 100-5.
30. Laviano, A., et al., *Oxidative stress and wasting in cancer*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2007. **10**(4): p. 449-56.
31. Laviano, A., M.M. Meguid, and F. Rossi-Fanelli, *Cancer anorexia: clinical implications, pathogenesis, and therapeutic strategies*. *Lancet Oncol*, 2003. **4**(11): p. 686-94.
32. Norton, J.A., et al., *Parabiotic transfer of cancer anorexia/cachexia in male rats*. *Cancer Res*, 1985. **45**(11 Pt 1): p. 5547-52.
33. Fearon, K.C. and A.G. Moses, *Cancer cachexia*. *Int J Cardiol*, 2002. **85**(1): p. 73-81.
34. Wigmore, S.J., et al., *Cytokine regulation of constitutive production of interleukin-8 and -6 by human pancreatic cancer cell lines and serum cytokine concentrations in patients with pancreatic cancer*. *Int J Oncol*, 2002. **21**(4): p. 881-6.
35. Bossola, M., et al., *Cancer cachexia: it's time for more clinical trials*. *Ann Surg Oncol*, 2007. **14**(2): p. 276-85.
36. Watchorn, T.M., et al., *Proteolysis-inducing factor regulates hepatic gene expression via the transcription factors NF-(kappa)B and STAT3*. *Faseb J*, 2001. **15**(3): p. 562-4.
37. Ballmer, P.E., et al., *Effects of human recombinant interleukin-1 beta on protein synthesis in rat tissues compared with a classical acute-phase reaction induced by turpentine. Rapid response of muscle to interleukin-1 beta*. *Biochem J*, 1991. **279** (Pt 3): p. 683-8.
38. Hellerstein, M.K., et al., *Interleukin-1-induced anorexia in the rat. Influence of prostaglandins*. *J Clin Invest*, 1989. **84**(1): p. 228-35.

39. Moldawer, L.L., et al., *Regulation of food intake and hepatic protein synthesis by recombinant-derived cytokines*. Am J Physiol, 1988. **254**(3 Pt 1): p. G450-6.
40. Morrone, G., et al., *Recombinant interleukin 6 regulates the transcriptional activation of a set of human acute phase genes*. J Biol Chem, 1988. **263**(25): p. 12554-8.
41. Stouthard, J.M., et al., *Recombinant human interleukin 6 in metastatic renal cell cancer: a phase II trial*. Br J Cancer, 1996. **73**(6): p. 789-93.
42. Argiles, J.M., et al., *Targets in clinical oncology: the metabolic environment of the patient*. Front Biosci, 2007. **12**: p. 3024-51.
43. Ahmed, T.A., et al., *Interleukin-6 inhibits growth hormone-mediated gene expression in hepatocytes*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2007. **292**(6): p. G1793-803.
44. Frost, R.A. and C.H. Lang, *Alteration of somatotropic function by proinflammatory cytokines*. J Anim Sci, 2004. **82 E-Suppl**: p. E100-109.
45. Garcia-Martinez, C., F.J. Lopez-Soriano, and J.M. Argiles, *Acute treatment with tumour necrosis factor-alpha induces changes in protein metabolism in rat skeletal muscle*. Mol Cell Biochem, 1993. **125**(1): p. 11-8.
46. Llovera, M., et al., *Different cytokines modulate ubiquitin gene expression in rat skeletal muscle*. Cancer Lett, 1998. **133**(1): p. 83-7.
47. Li, Y.P. and M.B. Reid, *NF-kappaB mediates the protein loss induced by TNF-alpha in differentiated skeletal muscle myotubes*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2000. **279**(4): p. R1165-70.
48. Guttridge, D.C., et al., *NF-kappaB-induced loss of MyoD messenger RNA: possible role in muscle decay and cachexia*. Science, 2000. **289**(5488): p. 2363-6.
49. Combaret, L., et al., *Manipulation of the ubiquitin-proteasome pathway in cachexia: pentoxifylline suppresses the activation of 20S and 26S proteasomes in muscles from tumor-bearing rats*. Mol Biol Rep, 1999. **26**(1-2): p. 95-101.
50. Baracos, V., et al., *Stimulation of muscle protein degradation and prostaglandin E2 release by leukocytic pyrogen (interleukin-1). A mechanism for the increased degradation of muscle proteins during fever*. N Engl J Med, 1983. **308**(10): p. 553-8.
51. Maltoni, M., et al., *Serum levels of tumour necrosis factor alpha and other cytokines do not correlate with weight loss and anorexia in cancer patients*. Support Care Cancer, 1997. **5**(2): p. 130-5.
52. Socher, S.H., et al., *Tumor necrosis factor not detectable in patients with clinical cancer cachexia*. J Natl Cancer Inst, 1988. **80**(8): p. 595-8.
53. Falconer, J.S., et al., *Cytokines, the acute-phase response, and resting energy expenditure in cachectic patients with pancreatic cancer*. Ann Surg, 1994. **219**(4): p. 325-31.
54. Tessitore, L., P. Costelli, and F.M. Baccino, *Humoral mediation for cachexia in tumour-bearing rats*. Br J Cancer, 1993. **67**(1): p. 15-23.

55. Catalano, M.G., et al., *Selective up-regulation of tumor necrosis factor receptor I in tumor-bearing rats with cancer-related cachexia*. Int J Oncol, 2003. **23**(2): p. 429-36.
56. Figueras, M., et al., *Cancer cachexia results in an increase in TNF-alpha receptor gene expression in both skeletal muscle and adipose tissue*. Int J Oncol, 2005. **27**(3): p. 855-60.
57. Besedovsky, H.O., et al., *Changes in plasma hormone profiles after tumor transplantation into syngeneic and allogeneic rats*. Int J Cancer, 1985. **36**(2): p. 209-16.
58. Knapp, M.L., et al., *Hormonal factors associated with weight loss in patients with advanced breast cancer*. Ann Clin Biochem, 1991. **28** (Pt 5): p. 480-6.
59. Schaur, R.J., et al., *Tumor host relations. I. Increased plasma cortisol in tumor-bearing humans compared with patients with benign surgical diseases*. J Cancer Res Clin Oncol, 1979. **93**(3): p. 281-5.
60. Bessey, P.Q., et al., *Combined hormonal infusion simulates the metabolic response to injury*. Ann Surg, 1984. **200**(3): p. 264-81.
61. Watters, J.M., et al., *Both inflammatory and endocrine mediators stimulate host responses to sepsis*. Arch Surg, 1986. **121**(2): p. 179-90.
62. Asakawa, A., et al., *Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin*. Gastroenterology, 2001. **120**(2): p. 337-45.
63. Zumbach, M.S., et al., *Tumor necrosis factor increases serum leptin levels in humans*. J Clin Endocrinol Metab, 1997. **82**(12): p. 4080-2.
64. Cangiano, C., et al., *Cytokines, tryptophan and anorexia in cancer patients before and after surgical tumor ablation*. Anticancer Res, 1994. **14**(3B): p. 1451-5.
65. Coskun, S., et al., *The effect of repeated tryptophan administration on body weight, food intake, brain lipid peroxidation and serotonin immunoreactivity in mice*. Mol Cell Biochem, 2006. **286**(1-2): p. 133-8.
66. Feksa, L.R., et al., *Promotion of oxidative stress by L-tryptophan in cerebral cortex of rats*. Neurochem Int, 2006. **49**(1): p. 87-93.
67. Ozer, C., et al., *The effect of tryptophan administration on ileum contractility and oxidant status in mice*. Amino Acids, 2007. **32**(3): p. 453-8.
68. Todorov, P., et al., *Characterization of a cancer cachectic factor*. Nature, 1996. **379**(6567): p. 739-42.
69. Gomes-Marcondes, M.C., et al., *Development of an in-vitro model system to investigate the mechanism of muscle protein catabolism induced by proteolysis-inducing factor*. Br J Cancer, 2002. **86**(10): p. 1628-33.
70. Lorite, M.J., et al., *Activation of ATP-ubiquitin-dependent proteolysis in skeletal muscle in vivo and murine myoblasts in vitro by a proteolysis-inducing factor (PIF)*. Br J Cancer, 2001. **85**(2): p. 297-302.
71. Smith, H.J., M.J. Lorite, and M.J. Tisdale, *Effect of a cancer cachectic factor on protein synthesis/degradation in murine C2C12 myoblasts: modulation by eicosapentaenoic acid*. Cancer Res, 1999. **59**(21): p. 5507-13.
72. Wigmore, S.J., et al., *Characteristics of patients with pancreatic cancer expressing a novel cancer cachectic factor*. Br J Surg, 2000. **87**(1): p. 53-8.

73. Cariuk, P., et al., *Induction of cachexia in mice by a product isolated from the urine of cachectic cancer patients*. Br J Cancer, 1997. **76**(5): p. 606-13.
74. Wieland, B.M., et al., *Is there a human homologue to the murine proteolysis-inducing factor?* Clin Cancer Res, 2007. **13**(17): p. 4984-92.
75. Todorov, P.T., et al., *Purification and characterization of a tumor lipid-mobilizing factor*. Cancer Res, 1998. **58**(11): p. 2353-8.
76. Tisdale, M.J., *Tumor-host interactions*. J Cell Biochem, 2004. **93**(5): p. 871-7.
77. Russell, S.T., K. Hirai, and M.J. Tisdale, *Role of beta3-adrenergic receptors in the action of a tumour lipid mobilizing factor*. Br J Cancer, 2002. **86**(3): p. 424-8.
78. Sanders, P.M. and M.J. Tisdale, *Effect of zinc-alpha2-glycoprotein (ZAG) on expression of uncoupling proteins in skeletal muscle and adipose tissue*. Cancer Lett, 2004. **212**(1): p. 71-81.
79. Bing, C., et al., *Zinc-alpha2-glycoprotein, a lipid mobilizing factor, is expressed in adipocytes and is up-regulated in mice with cancer cachexia*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(8): p. 2500-5.
80. Grimble, R.F., *Nutritional therapy for cancer cachexia*. Gut, 2003. **52**(10): p. 1391-2.
81. Fredrix, E.W., et al., *Effect of different tumor types on resting energy expenditure*. Cancer Res, 1991. **51**(22): p. 6138-41.
82. Zyllicz, Z., et al., *Metabolic response to enteral food in different phases of cancer cachexia in rats*. Oncology, 1990. **47**(1): p. 87-91.
83. Klingenberg, M., *Uncoupling proteins--how do they work and how are they regulated*. IUBMB Life, 2001. **52**(3-5): p. 175-9.
84. Shellock, F.G., M.S. Riedinger, and M.C. Fishbein, *Brown adipose tissue in cancer patients: possible cause of cancer-induced cachexia*. J Cancer Res Clin Oncol, 1986. **111**(1): p. 82-5.
85. Bing, C., et al., *Increased gene expression of brown fat uncoupling protein (UCP)1 and skeletal muscle UCP2 and UCP3 in MAC16-induced cancer cachexia*. Cancer Res, 2000. **60**(9): p. 2405-10.
86. Clapham, J.C., et al., *Mice overexpressing human uncoupling protein-3 in skeletal muscle are hyperphagic and lean*. Nature, 2000. **406**(6794): p. 415-8.
87. Busquets, S., et al., *Hyperlipemia: a role in regulating UCP3 gene expression in skeletal muscle during cancer cachexia?* FEBS Lett, 2001. **505**(2): p. 255-8.
88. Collins, P., et al., *Muscle UCP-3 mRNA levels are elevated in weight loss associated with gastrointestinal adenocarcinoma in humans*. Br J Cancer, 2002. **86**(3): p. 372-5.
89. Bing, C., et al., *Expression of uncoupling proteins-1, -2 and -3 mRNA is induced by an adenocarcinoma-derived lipid-mobilizing factor*. Br J Cancer, 2002. **86**(4): p. 612-8.
90. Busquets, S., et al., *In the rat, tumor necrosis factor alpha administration results in an increase in both UCP2 and UCP3 mRNAs in skeletal muscle: a possible mechanism for cytokine-induced thermogenesis?* FEBS Lett, 1998. **440**(3): p. 348-50.

91. Eden, E., et al., *Glucose flux in relation to energy expenditure in malnourished patients with and without cancer during periods of fasting and feeding*. *Cancer Res*, 1984. **44**(4): p. 1718-24.
92. Holm, E., et al., *Substrate balances across colonic carcinomas in humans*. *Cancer Res*, 1995. **55**(6): p. 1373-8.
93. Fearon, K.C., et al., *Albumin synthesis rates are not decreased in hypoalbuminemic cachectic cancer patients with an ongoing acute-phase protein response*. *Ann Surg*, 1998. **227**(2): p. 249-54.
94. Barber, M.D., K.C. Fearon, and J.A. Ross, *Relationship of serum levels of interleukin-6, soluble interleukin-6 receptor and tumour necrosis factor receptors to the acute-phase protein response in advanced pancreatic cancer*. *Clin Sci (Lond)*, 1999. **96**(1): p. 83-7.
95. Falconer, J.S., et al., *Acute-phase protein response and survival duration of patients with pancreatic cancer*. *Cancer*, 1995. **75**(8): p. 2077-82.
96. Drott, C., H. Persson, and K. Lundholm, *Cardiovascular and metabolic response to adrenaline infusion in weight-losing patients with and without cancer*. *Clin Physiol*, 1989. **9**(5): p. 427-39.
97. van Royen, M., et al., *DNA fragmentation occurs in skeletal muscle during tumor growth: A link with cancer cachexia?* *Biochem Biophys Res Commun*, 2000. **270**(2): p. 533-7.
98. Emery, P.W., et al., *Protein synthesis in muscle measured in vivo in cachectic patients with cancer*. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 1984. **289**(6445): p. 584-6.
99. Wolfe, R.R. "Hippocrates" clinical research in cachexia lecture: the metabolic basis of muscle loss. in *4th Cachexia Conference*. 2007. Tampa, Florida, USA.
100. Yoshizawa, F., *Regulation of protein synthesis by branched-chain amino acids in vivo*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004. **313**(2): p. 417-22.
101. Crozier, S.J., et al., *Oral leucine administration stimulates protein synthesis in rat skeletal muscle*. *J Nutr*, 2005. **135**(3): p. 376-82.
102. Costelli, P., et al., *Activation of Ca(2+)-dependent proteolysis in skeletal muscle and heart in cancer cachexia*. *Br J Cancer*, 2001. **84**(7): p. 946-50.
103. Hasselgren, P.O. and J.E. Fischer, *Muscle cachexia: current concepts of intracellular mechanisms and molecular regulation*. *Ann Surg*, 2001. **233**(1): p. 9-17.
104. Jago, R.T., et al., *Skeletal muscle mRNA levels for cathepsin B, but not components of the ubiquitin-proteasome pathway, are increased in patients with lung cancer referred for thoracotomy*. *Clin Sci (Lond)*, 2002. **102**(3): p. 353-61.
105. Fujita, J., et al., *Anti-interleukin-6 receptor antibody prevents muscle atrophy in colon-26 adenocarcinoma-bearing mice with modulation of lysosomal and ATP-ubiquitin-dependent proteolytic pathways*. *Int J Cancer*, 1996. **68**(5): p. 637-43.
106. Mastrocola, R., et al., *Muscle wasting in diabetic and in tumor-bearing rats: role of oxidative stress*. *Free Radic Biol Med*, 2008. **44**(4): p. 584-93.
107. Bodine, S.C., et al., *Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy*. *Science*, 2001. **294**(5547): p. 1704-8.

108. Kwak, K.S., et al., *Regulation of protein catabolism by muscle-specific and cytokine-inducible ubiquitin ligase E3alpha-II during cancer cachexia*. *Cancer Res*, 2004. **64**(22): p. 8193-8.
109. Cai, D., et al., *IKKbeta/NF-kappaB activation causes severe muscle wasting in mice*. *Cell*, 2004. **119**(2): p. 285-98.
110. Acharyya, S. and D.C. Guttridge, *Cancer cachexia signaling pathways continue to emerge yet much still points to the proteasome*. *Clin Cancer Res*, 2007. **13**(5): p. 1356-61.
111. Viatour, P., et al., *Phosphorylation of NF-kappaB and IkappaB proteins: implications in cancer and inflammation*. *Trends Biochem Sci*, 2005. **30**(1): p. 43-52.
112. Tintignac, L.A., et al., *Degradation of MyoD mediated by the SCF (MAFbx) ubiquitin ligase*. *J Biol Chem*, 2005. **280**(4): p. 2847-56.
113. Di Marco, S., et al., *NF-kappa B-mediated MyoD decay during muscle wasting requires nitric oxide synthase mRNA stabilization, HuR protein, and nitric oxide release*. *Mol Cell Biol*, 2005. **25**(15): p. 6533-45.
114. Costelli, P., et al., *Skeletal muscle wasting in tumor-bearing rats is associated with MyoD down-regulation*. *Int J Oncol*, 2005. **26**(6): p. 1663-8.
115. Li, Y.P., et al., *Skeletal muscle myocytes undergo protein loss and reactive oxygen-mediated NF-kappaB activation in response to tumor necrosis factor alpha*. *Faseb J*, 1998. **12**(10): p. 871-80.
116. Whitehouse, A.S. and M.J. Tisdale, *Increased expression of the ubiquitin-proteasome pathway in murine myotubes by proteolysis-inducing factor (PIF) is associated with activation of the transcription factor NF-kappaB*. *Br J Cancer*, 2003. **89**(6): p. 1116-22.
117. Wyke, S.M., S.T. Russell, and M.J. Tisdale, *Induction of proteasome expression in skeletal muscle is attenuated by inhibitors of NF-kappaB activation*. *Br J Cancer*, 2004. **91**(9): p. 1742-50.
118. Penner, C.G., et al., *The transcription factors NF-kappab and AP-1 are differentially regulated in skeletal muscle during sepsis*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001. **281**(5): p. 1331-6.
119. Moore-Carrasco, R., et al., *The AP-1/NF-kappaB double inhibitor SP100030 can revert muscle wasting during experimental cancer cachexia*. *Int J Oncol*, 2007. **30**(5): p. 1239-45.
120. Gonzalez-Cadavid, N.F. and S. Bhasin, *Role of myostatin in metabolism*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2004. **7**(4): p. 451-7.
121. Langley, B., et al., *Myostatin inhibits myoblast differentiation by down-regulating MyoD expression*. *J Biol Chem*, 2002. **277**(51): p. 49831-40.
122. Kambadur, R., et al., *Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscled Belgian Blue and Piedmontese cattle*. *Genome Res*, 1997. **7**(9): p. 910-6.
123. McFarlane, C., et al., *Myostatin induces cachexia by activating the ubiquitin proteolytic system through an NF-kappaB-independent, FoxO1-dependent mechanism*. *J Cell Physiol*, 2006. **209**(2): p. 501-14.
124. Acharyya, S., et al., *Dystrophin glycoprotein complex dysfunction: a regulatory link between muscular dystrophy and cancer cachexia*. *Cancer Cell*, 2005. **8**(5): p. 421-32.

125. Mantovani, G., et al., *Reactive oxygen species, antioxidant mechanisms and serum cytokine levels in cancer patients: impact of an antioxidant treatment*. J Cell Mol Med, 2002. **6**(4): p. 570-82.
126. Cervera, J. and R.L. Levine, *Modulation of the hydrophobicity of glutamine synthetase by mixed-function oxidation*. Faseb J, 1988. **2**(10): p. 2591-5.
127. Davies, K.J., *Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. general aspects*. J Biol Chem, 1987. **262**(20): p. 9895-901.
128. Li, Y.P., et al., *TNF-alpha increases ubiquitin-conjugating activity in skeletal muscle by up-regulating UbcH2/E220k*. Faseb J, 2003. **17**(9): p. 1048-57.
129. Barreiro, E., et al., *Both oxidative and nitrosative stress are associated with muscle wasting in tumour-bearing rats*. FEBS Lett, 2005. **579**(7): p. 1646-52.
130. Gulec, M., et al., *Adenosine deaminase and xanthine oxidase activities in bladder washing fluid from patients with bladder cancer: a preliminary study*. Clin Biochem, 2003. **36**(3): p. 193-6.
131. Tsao, S.M., M.C. Yin, and W.H. Liu, *Oxidant stress and B vitamins status in patients with non-small cell lung cancer*. Nutr Cancer, 2007. **59**(1): p. 8-13.
132. Mantovani, G., et al., *Managing cancer-related anorexia/cachexia*. Drugs, 2001. **61**(4): p. 499-514.
133. Sies, H., *Oxidative stress: oxidants and antioxidants*. Exp Physiol, 1997. **82**(2): p. 291-5.
134. Busquets, S., et al., *Apoptosis is present in skeletal muscle of cachectic gastro-intestinal cancer patients*. Clin Nutr, 2007. **26**(5): p. 614-8.
135. Fearon, K.C. and T. Preston, *Body composition in cancer cachexia*. Infusionstherapie, 1990. **17 Suppl 3**: p. 63-6.
136. Thompson, M.P., et al., *Increased expression of the mRNA for hormone-sensitive lipase in adipose tissue of cancer patients*. Biochim Biophys Acta, 1993. **1180**(3): p. 236-42.
137. Anker, S.D. and A.J. Coats, *Cardiac cachexia: a syndrome with impaired survival and immune and neuroendocrine activation*. Chest, 1999. **115**(3): p. 836-47.
138. Agustsson, T., et al., *Mechanism of increased lipolysis in cancer cachexia*. Cancer Res, 2007. **67**(11): p. 5531-7.
139. Vlassara, H., et al., *Reduced plasma lipoprotein lipase activity in patients with malignancy-associated weight loss*. Horm Metab Res, 1986. **18**(10): p. 698-703.
140. Strassmann, G. and T. Kambayashi, *Inhibition of experimental cancer cachexia by anti-cytokine and anti-cytokine-receptor therapy*. Cytokines Mol Ther, 1995. **1**(2): p. 107-13.
141. Hirai, K., et al., *Biological evaluation of a lipid-mobilizing factor isolated from the urine of cancer patients*. Cancer Res, 1998. **58**(11): p. 2359-65.
142. Fearon, K.C., et al., *Effect of a protein and energy dense N-3 fatty acid enriched oral supplement on loss of weight and lean tissue in cancer cachexia: a randomised double blind trial*. Gut, 2003. **52**(10): p. 1479-86.
143. Willox, J.C., et al., *Prednisolone as an appetite stimulant in patients with cancer*. Br Med J (Clin Res Ed), 1984. **288**(6410): p. 27.

144. Femia, R.A. and R.E. Goyette, *The science of megestrol acetate delivery: potential to improve outcomes in cachexia*. BioDrugs, 2005. **19**(3): p. 179-87.
145. Bishop, J.F., et al., *The effect of danazol on tumour control and weight loss in patients on tamoxifen therapy for advanced breast cancer: a randomised double-blind placebo controlled trial*. Eur J Cancer, 1993. **29A**(6): p. 814-8.
146. Jatoi, A., et al., *Dronabinol versus megestrol acetate versus combination therapy for cancer-associated anorexia: a North Central Cancer Treatment Group study*. J Clin Oncol, 2002. **20**(2): p. 567-73.
147. Kardinal, C.G., et al., *A controlled trial of cyproheptadine in cancer patients with anorexia and/or cachexia*. Cancer, 1990. **65**(12): p. 2657-62.
148. DeBoer, M.D., et al., *Ghrelin treatment causes increased food intake and retention of lean body mass in a rat model of cancer cachexia*. Endocrinology, 2007. **148**(6): p. 3004-12.
149. Garcia, J.M. and W.J. Polvino, *Effect on body weight and safety of RC-1291, a novel, orally available ghrelin mimetic and growth hormone secretagogue: results of a phase I, randomized, placebo-controlled, multiple-dose study in healthy volunteers*. Oncologist, 2007. **12**(5): p. 594-600.
150. McMillan, D.C., et al., *Effect of extended ibuprofen administration on the acute phase protein response in colorectal cancer patients*. Eur J Surg Oncol, 1995. **21**(5): p. 531-4.
151. Preston, T., et al., *Effect of ibuprofen on the acute-phase response and protein metabolism in patients with cancer and weight loss*. Br J Surg, 1995. **82**(2): p. 229-34.
152. Wigmore, S.J., et al., *Ibuprofen reduces energy expenditure and acute-phase protein production compared with placebo in pancreatic cancer patients*. Br J Cancer, 1995. **72**(1): p. 185-8.
153. McMillan, D.C., et al., *A prospective randomized study of megestrol acetate and ibuprofen in gastrointestinal cancer patients with weight loss*. Br J Cancer, 1999. **79**(3-4): p. 495-500.
154. Hussey, H.J. and M.J. Tisdale, *Effect of the specific cyclooxygenase-2 inhibitor meloxicam on tumour growth and cachexia in a murine model*. Int J Cancer, 2000. **87**(1): p. 95-100.
155. Goldberg, R.M., et al., *Pentoxifylline for treatment of cancer anorexia and cachexia? A randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. J Clin Oncol, 1995. **13**(11): p. 2856-9.
156. Gordon, J.N., et al., *Thalidomide in the treatment of cancer cachexia: a randomised placebo controlled trial*. Gut, 2005. **54**(4): p. 540-5.
157. Lissoni, P., et al., *Is there a role for melatonin in the treatment of neoplastic cachexia?* Eur J Cancer, 1996. **32A**(8): p. 1340-3.
158. Argiles, J.M., F.J. Lopez-Soriano, and S. Busquets, *Novel approaches to the treatment of cachexia*. Drug Discov Today, 2008. **13**(1-2): p. 73-8.
159. Barber, M.D., *Cancer cachexia and its treatment with fish-oil-enriched nutritional supplementation*. Nutrition, 2001. **17**(9): p. 751-5.
160. Barber, M.D., et al., *Fish oil-enriched nutritional supplement attenuates progression of the acute-phase response in weight-losing patients with advanced pancreatic cancer*. J Nutr, 1999. **129**(6): p. 1120-5.

161. Barber, M.D., et al., *Effect of a fish oil-enriched nutritional supplement on metabolic mediators in patients with pancreatic cancer cachexia*. Nutr Cancer, 2001. **40**(2): p. 118-24.
162. Hussey, H.J. and M.J. Tisdale, *Effect of a cachectic factor on carbohydrate metabolism and attenuation by eicosapentaenoic acid*. Br J Cancer, 1999. **80**(8): p. 1231-5.
163. Beck, S.A., K.L. Smith, and M.J. Tisdale, *Anticachectic and antitumor effect of eicosapentaenoic acid and its effect on protein turnover*. Cancer Res, 1991. **51**(22): p. 6089-93.
164. Smith, H.J., P. Mukerji, and M.J. Tisdale, *Attenuation of proteasome-induced proteolysis in skeletal muscle by {beta}-hydroxy-{beta}-methylbutyrate in cancer-induced muscle loss*. Cancer Res, 2005. **65**(1): p. 277-83.
165. May, P.E., et al., *Reversal of cancer-related wasting using oral supplementation with a combination of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate, arginine, and glutamine*. Am J Surg, 2002. **183**(4): p. 471-9.
166. Barber, M.D. and K.C. Fearon, *Tolerance and incorporation of a high-dose eicosapentaenoic acid diester emulsion by patients with pancreatic cancer cachexia*. Lipids, 2001. **36**(4): p. 347-51.
167. Busquets, S., et al., *Anticachectic effects of formoterol: a drug for potential treatment of muscle wasting*. Cancer Res, 2004. **64**(18): p. 6725-31.
168. Carbo, N., et al., *Comparative effects of beta2-adrenergic agonists on muscle waste associated with tumour growth*. Cancer Lett, 1997. **115**(1): p. 113-8.
169. Carbo, N., et al., *Interleukin-15 antagonizes muscle protein waste in tumour-bearing rats*. Br J Cancer, 2000. **83**(4): p. 526-31.
170. Sturlan, S., et al., *In vivo gene transfer of murine interleukin-4 inhibits colon-26-mediated cancer cachexia in mice*. Anticancer Res, 2002. **22**(5): p. 2547-54.
171. Mori, K., et al., *Murine interleukin-12 prevents the development of cancer cachexia in a murine model*. Int J Cancer, 1996. **67**(6): p. 849-55.
172. Bielefeldt-Ohmann, H., et al., *Interleukin-6 involvement in mesothelioma pathobiology: inhibition by interferon alpha immunotherapy*. Cancer Immunol Immunother, 1995. **40**(4): p. 241-50.
173. Kanzaki, M., et al., *Erythropoietin attenuates cachectic events and decreases production of interleukin-6, a cachexia-inducing cytokine*. Cytokine, 2005. **32**(5): p. 234-9.
174. Sanders, P.M., S.T. Russell, and M.J. Tisdale, *Angiotensin II directly induces muscle protein catabolism through the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway and may play a role in cancer cachexia*. Br J Cancer, 2005. **93**(4): p. 425-34.
175. Zhao, S.P. and X.M. Xie, *Captopril inhibits the production of tumor necrosis factor-alpha by human mononuclear cells in patients with congestive heart failure*. Clin Chim Acta, 2001. **304**(1-2): p. 85-90.
176. Kawamura, I., et al., *Intratumoral injection of oligonucleotides to the NF kappa B binding site inhibits cachexia in a mouse tumor model*. Gene Ther, 1999. **6**(1): p. 91-7.

177. Eda, H., Y. Tanaka, and H. Ishitsuka, *5'-Deoxy-5-fluorouridine improves cachexia by a mechanism independent of its antiproliferative action in colon 26 adenocarcinoma-bearing mice*. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1991. **29**(1): p. 1-6.
178. Tanaka, Y., et al., *Anticachectic activity of 5'-deoxy-5-fluorouridine in a murine tumor cachexia model, colon 26 adenocarcinoma*. *Cancer Res*, 1990. **50**(15): p. 4528-32.
179. Hyltander, A., et al., *Beta-adrenoceptor activity and resting energy metabolism in weight losing cancer patients*. *Eur J Cancer*, 2000. **36**(3): p. 330-4.
180. Drott, C., et al., *Effects of tumor-load and malnutrition on myocardial function in the isolated working rat heart*. *J Mol Cell Cardiol*, 1986. **18**(11): p. 1165-76.
181. Elion, G.B., *Nobel lecture in physiology or medicine--1988. The purine path to chemotherapy*. *In Vitro Cell Dev Biol*, 1989. **25**(4): p. 321-30.
182. Pacher, P., A. Nivorozhkin, and C. Szabo, *Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol*. *Pharmacol Rev*, 2006. **58**(1): p. 87-114.
183. Elion, G.B., A. Kovensky, and G.H. Hitchings, *Metabolic studies of allopurinol, an inhibitor of xanthine oxidase*. *Biochem Pharmacol*, 1966. **15**(7): p. 863-80.
184. Reiter, S., et al., *Demonstration of a combined deficiency of xanthine oxidase and aldehyde oxidase in xanthinuric patients not forming oxipurinol*. *Clin Chim Acta*, 1990. **187**(3): p. 221-34.
185. Galbusera, C., et al., *Superoxide radical production by allopurinol and xanthine oxidase*. *Biochem Pharmacol*, 2006. **71**(12): p. 1747-52.
186. Pea, F., *Pharmacology of drugs for hyperuricemia. Mechanisms, kinetics and interactions*. *Contrib Nephrol*, 2005. **147**: p. 35-46.
187. Murr, C., et al., *Increased neopterin concentrations in patients with cancer: indicator of oxidative stress?* *Anticancer Res*, 1999. **19**(3A): p. 1721-8.
188. Kim, G.J., K. Chandrasekaran, and W.F. Morgan, *Mitochondrial dysfunction, persistently elevated levels of reactive oxygen species and radiation-induced genomic instability: a review*. *Mutagenesis*, 2006. **21**(6): p. 361-7.
189. Mantovani, G., et al., *Antioxidant agents are effective in inducing lymphocyte progression through cell cycle in advanced cancer patients: assessment of the most important laboratory indexes of cachexia and oxidative stress*. *J Mol Med*, 2003. **81**(10): p. 664-73.
190. Fortunati, N., et al., *Pro-inflammatory cytokines and oxidative stress/antioxidant parameters characterize the bio-humoral profile of early cachexia in lung cancer patients*. *Oncol Rep*, 2007. **18**(6): p. 1521-7.
191. Chiricolo, M., et al., *Cytotoxicity of, and DNA damage by, active oxygen species produced by xanthine oxidase*. *FEBS Lett*, 1991. **291**(2): p. 173-6.
192. Griguer, C.E., et al., *Xanthine oxidase-dependent regulation of hypoxia-inducible factor in cancer cells*. *Cancer Res*, 2006. **66**(4): p. 2257-63.

193. Matsui, N., et al., *Xanthine oxidase-derived reactive oxygen species activate nuclear factor kappa B during hepatic ischemia in rats*. Jpn J Pharmacol, 2000. **84**(3): p. 363-6.
194. Matsui, N., et al., *Inhibition of NF-kappaB activation during ischemia reduces hepatic ischemia/reperfusion injury in rats*. J Toxicol Sci, 2005. **30**(2): p. 103-10.
195. Hakim, J., [Reactive oxygen species and inflammation]. C R Seances Soc Biol Fil, 1993. **187**(3): p. 286-95.
196. Freitas, J.J., et al., *Walker-256 tumor growth causes oxidative stress in rat brain*. J Neurochem, 2001. **77**(2): p. 655-63.
197. Moorhouse, P.C., et al., *Allopurinol and oxypurinol are hydroxyl radical scavengers*. FEBS Lett, 1987. **213**(1): p. 23-8.
198. Knight, T.R., et al., *Vascular and hepatocellular peroxynitrite formation during acetaminophen toxicity: role of mitochondrial oxidant stress*. Toxicol Sci, 2001. **62**(2): p. 212-20.
199. Augustin, A.J., et al., *Free radical scavenging and antioxidant activity of allopurinol and oxypurinol in experimental lens-induced uveitis*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1994. **35**(11): p. 3897-904.
200. Hooper, D.C., et al., *Uric acid, a natural scavenger of peroxynitrite, in experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(2): p. 675-80.
201. Radi, R., et al., *Inhibition of xanthine oxidase by uric acid and its influence on superoxide radical production*. Biochim Biophys Acta, 1992. **1122**(2): p. 178-82.
202. Dorion, D., et al., *Role of xanthine oxidase in reperfusion injury of ischemic skeletal muscles in the pig and human*. J Appl Physiol, 1993. **75**(1): p. 246-55.
203. Shi, Y., J.E. Evans, and K.L. Rock, *Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells*. Nature, 2003. **425**(6957): p. 516-21.
204. Radi, R., et al., *Xanthine oxidase binding to glycosaminoglycans: kinetics and superoxide dismutase interactions of immobilized xanthine oxidase-heparin complexes*. Arch Biochem Biophys, 1997. **339**(1): p. 125-35.
205. George, J., et al., *High-dose allopurinol improves endothelial function by profoundly reducing vascular oxidative stress and not by lowering uric acid*. Circulation, 2006. **114**(23): p. 2508-16.
206. Doehner, W., et al., *Effects of xanthine oxidase inhibition with allopurinol on endothelial function and peripheral blood flow in hyperuricemic patients with chronic heart failure: results from 2 placebo-controlled studies*. Circulation, 2002. **105**(22): p. 2619-24.
207. Anker, S.D., et al., *Uric acid and survival in chronic heart failure: validation and application in metabolic, functional, and hemodynamic staging*. Circulation, 2003. **107**(15): p. 1991-7.
208. Doehner, W., et al., *Uric acid in cachectic and noncachectic patients with chronic heart failure: relationship to leg vascular resistance*. Am Heart J, 2001. **141**(5): p. 792-9.

209. Leyva, F., et al., *Uric acid in chronic heart failure: a marker of chronic inflammation*. Eur Heart J, 1998. **19**(12): p. 1814-22.
210. Duncan, J.G., et al., *Chronic xanthine oxidase inhibition prevents myofibrillar protein oxidation and preserves cardiac function in a transgenic mouse model of cardiomyopathy*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005. **289**(4): p. H1512-8.
211. Cingolani, H.E., et al., *The effect of xanthine oxidase inhibition upon ejection fraction in heart failure patients: La Plata Study*. J Card Fail, 2006. **12**(7): p. 491-8.
212. de Jong, J.W., et al., *Enhanced expression and activity of xanthine oxidoreductase in the failing heart*. J Mol Cell Cardiol, 2000. **32**(11): p. 2083-9.
213. Minhas, K.M., et al., *Xanthine oxidoreductase inhibition causes reverse remodeling in rats with dilated cardiomyopathy*. Circ Res, 2006. **98**(2): p. 271-9.
214. Kogler, H., et al., *Disproportionate enhancement of myocardial contractility by the xanthine oxidase inhibitor oxypurinol in failing rat myocardium*. Cardiovasc Res, 2003. **59**(3): p. 582-92.
215. Perez, N.G., W.D. Gao, and E. Marban, *Novel myofilament Ca²⁺-sensitizing property of xanthine oxidase inhibitors*. Circ Res, 1998. **83**(4): p. 423-30.
216. Reyes, A.J. and W.P. Leary, *Allopurinol or oxypurinol in heart failure therapy - a promising new development or end of story?* Cardiovasc Drugs Ther, 2005. **19**(5): p. 311-3.
217. Vaughan, W.G., J.W. Horton, and P.B. Walker, *Allopurinol prevents intestinal permeability changes after ischemia-reperfusion injury*. J Pediatr Surg, 1992. **27**(8): p. 968-72; discussion 972-3.
218. Deitch, E.A., et al., *Hemorrhagic shock-induced bacterial translocation is reduced by xanthine oxidase inhibition or inactivation*. Surgery, 1988. **104**(2): p. 191-8.
219. Desco, M.C., et al., *Xanthine oxidase is involved in free radical production in type 1 diabetes: protection by allopurinol*. Diabetes, 2002. **51**(4): p. 1118-24.
220. Matsumoto, S., et al., *Confirmation of superoxide generation via xanthine oxidase in streptozotocin-induced diabetic mice*. Free Radic Res, 2003. **37**(7): p. 767-72.
221. Iwamoto, K. and D.W. Martin, Jr., *Inhibition of cell growth and of purine biosynthesis by allopurinol and 4-aminopyrazolo(3,4-d)pyrimidine--a comparative study*. Biochem Pharmacol, 1974. **23**(22): p. 3199-209.
222. Löscher, W., F.R. Ungemach, and R. Kroker, *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*. Vol. 6. 2003: Parey Buchverlag.
223. Arch, J.R., *beta(3)-Adrenoceptor agonists: potential, pitfalls and progress*. Eur J Pharmacol, 2002. **440**(2-3): p. 99-107.
224. Reiter, M.J., *Cardiovascular drug class specificity: beta-blockers*. Prog Cardiovasc Dis, 2004. **47**(1): p. 11-33.
225. de Souza, C.J. and B.F. Burkey, *Beta 3-adrenoceptor agonists as anti-diabetic and anti-obesity drugs in humans*. Curr Pharm Des, 2001. **7**(14): p. 1433-49.

226. Anker, S.D. *ACE inhibitors and beta blockers: from prevention to therapy*. in *2nd Cachexia Conference*. 2003. Berlin, Germany.
227. Hryniewicz, K., et al., *Partial reversal of cachexia by beta-adrenergic receptor blocker therapy in patients with chronic heart failure*. *J Card Fail*, 2003. **9**(6): p. 464-8.
228. Lohse, M.J., S. Engelhardt, and T. Eschenhagen, *What is the role of beta-adrenergic signaling in heart failure?* *Circ Res*, 2003. **93**(10): p. 896-906.
229. von Haehling, S., et al., *Effect of noradrenaline and isoproterenol on lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha production in whole blood from patients with chronic heart failure and the role of beta-adrenergic receptors*. *Am J Cardiol*, 2005. **95**(7): p. 885-9.
230. Weber, M.A., *The role of the new beta-blockers in treating cardiovascular disease*. *Am J Hypertens*, 2005. **18**(12 Pt 2): p. 169S-176S.
231. McDevitt, D.G., *Pharmacologic aspects of cardioselectivity in a beta-blocking drug*. *Am J Cardiol*, 1987. **59**(13): p. 10F-12F.
232. Bristow, M.R., *beta-adrenergic receptor blockade in chronic heart failure*. *Circulation*, 2000. **101**(5): p. 558-69.
233. Cruickshank, J.M., *Are we misunderstanding beta-blockers*. *Int J Cardiol*, 2007. **120**(1): p. 10-27.
234. Hoppe, U.C., et al., *Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz*. *Z Kardiol*, 2005. **94**(8): p. 488-509.
235. *The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial*. *Lancet*, 1999. **353**(9146): p. 9-13.
236. Lainscak, M., I. Keber, and S.D. Anker, *Body composition changes in patients with systolic heart failure treated with beta blockers: a pilot study*. *Int J Cardiol*, 2006. **106**(3): p. 319-22.
237. Goldspink, D.F., et al., *Catecholamine-induced apoptosis and necrosis in cardiac and skeletal myocytes of the rat in vivo: the same or separate death pathways?* *Exp Physiol*, 2004. **89**(4): p. 407-16.
238. Tan, L.B., et al., *Characterization of adrenoceptor involvement in skeletal and cardiac myotoxicity Induced by sympathomimetic agents: toward a new bioassay for beta-blockers*. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2003. **41**(4): p. 518-25.
239. Herndon, D.N., et al., *Reversal of catabolism by beta-blockade after severe burns*. *N Engl J Med*, 2001. **345**(17): p. 1223-9.
240. Brooks, S.L., et al., *Sympathetic activation of brown-adipose-tissue thermogenesis in cachexia*. *Biosci Rep*, 1981. **1**(6): p. 509-17.
241. Tisdale, M.J., *Molecular pathways leading to cancer cachexia*. *Physiology (Bethesda)*, 2005. **20**: p. 340-8.
242. Costelli, P., et al., *Muscle protein waste in tumor-bearing rats is effectively antagonized by a beta 2-adrenergic agonist (clenbuterol). Role of the ATP-ubiquitin-dependent proteolytic pathway*. *J Clin Invest*, 1995. **95**(5): p. 2367-72.
243. Tessitore, L., G. Bonelli, and F.M. Baccino, *Early development of protein metabolic perturbations in the liver and skeletal muscle of tumour-bearing rats. A model system for cancer cachexia*. *Biochem J*, 1987. **241**(1): p. 153-9.

244. Cremades, O., et al., *Nutritional treatment of cancer cachexia in rats. Use of a diet formulated with a crayfish enzymatic extract.* Eur J Nutr, 2007. **46**(6): p. 347-53.
245. Meijnsing, B., et al., *Effects of the phosphodiesterase-IV inhibitor EMD 95832/3 on tumour growth and cachexia in rats bearing the Yoshida AH-130 ascites hepatoma.* Cancer Lett, 2002. **188**(1-2): p. 53-8.
246. Irminger-Finger, I., et al., *BARD1 content correlates with increased DNA fragmentation associated with muscle wasting in tumour-bearing rats.* Oncol Rep, 2006. **15**(6): p. 1425-8.
247. Tessitore, L., et al., *Cancer cachexia, malnutrition, and tissue protein turnover in experimental animals.* Arch Biochem Biophys, 1993. **306**(1): p. 52-8.
248. Bauhofer, A., et al., *Sickness behaviour, an animal equivalent to human quality of life, is improved in septic rats by G-CSF and antibiotic prophylaxis.* Langenbecks Arch Surg, 2001. **386**(2): p. 132-40.
249. Löffler, G., *Stoffwechsel der Purine und Pyrimidine*, in *Biochemie und Pathobiochemie*, G. Löffler and P.E. Petrides, Editors. 1998, Springer. p. 590.
250. Munzel, T., T. Heitzer, and D.G. Harrison, *The physiology and pathophysiology of the nitric oxide/superoxide system.* Herz, 1997. **22**(3): p. 158-72.
251. Yoshida, T., [*Studies on ascites hepatoma; also a contribution to the cellular anatomy of malignant tumors during growth, and the individuality of single tumors.*]. Virchows Arch, 1957. **330**(1): p. 85-105.
252. Landmesser, U., B. Hornig, and H. Drexler, *Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis?* Circulation, 2004. **109**(21 Suppl 1): p. II27-33.
253. Nishikawa, M., et al., *Macrophage-derived nitric oxide induces apoptosis of rat hepatoma cells in vivo.* Hepatology, 1998. **28**(6): p. 1474-80.
254. Salim, A.S., *Removing oxygen-derived free radicals delays hepatic metastases and prolongs survival in colonic cancer. A study in the rat.* Oncology, 1992. **49**(1): p. 58-62.
255. Ruggiero, C., et al., *Uric acid and inflammatory markers.* Eur Heart J, 2006. **27**(10): p. 1174-81.
256. Shin, H.S., et al., *Uric acid as a prognostic factor for survival time: a prospective cohort study of terminally ill cancer patients.* J Pain Symptom Manage, 2006. **31**(6): p. 493-501.
257. Nystrom, T., *Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence.* Embo J, 2005. **24**(7): p. 1311-7.
258. Noriki, S., et al., *Multi-organ damage (MOD) induced by cancer cachexia and its pathogenesis.* Basic Appl Histochem, 1989. **33**(4): p. 337-46.
259. Möller, N., *Untersuchung der Sauerstoffradikalproduktion und des Elektronentransfermechanismus der Xanthinoxidoreduktase*, in *Fakultät II - Mathematik und Naturwissenschaften*. 2008, Technische Universität Berlin: Berlin.

260. Elenkov, I.J., *Neurohormonal-cytokine interactions: implications for inflammation, common human diseases and well-being*. *Neurochem Int*, 2008. **52**(1-2): p. 40-51.
261. Elenkov, I.J. and G.P. Chrousos, *Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity*. *Ann N Y Acad Sci*, 2002. **966**: p. 290-303.
262. Lopez-Soriano, J., J.M. Argiles, and F.J. Lopez-Soriano, *Lipid metabolism in rats bearing the Yoshida AH-130 ascites hepatoma*. *Mol Cell Biochem*, 1996. **165**(1): p. 17-23.
263. Lopez-Soriano, J., J.M. Argiles, and F.J. Lopez-Soriano, *Sequential changes in lipoprotein lipase activity and lipaemia induced by the Yoshida AH-130 ascites hepatoma in rats*. *Cancer Lett*, 1997. **116**(2): p. 159-65.
264. Kawasaki, M., et al., *Comparison of the changes in lipid metabolism between hepatoma-bearing and lipopolysaccharide-treated rats*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2004. **68**(1): p. 72-8.
265. Scheuer, H., et al., *Oxidant stress in hyperlipidemia-induced renal damage*. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2000. **278**(1): p. F63-74.
266. Pova, H., Jr., L.D. Sa, and V.M. Lessa, *Xanthine oxidase and triglycerides in serum of patients with hyperlipoproteinemia, type IV*. *Biomed Biochim Acta*, 1984. **43**(10): p. 1201-3.
267. Bowie, A. and L.A. O'Neill, *Oxidative stress and nuclear factor-kappaB activation: a reassessment of the evidence in the light of recent discoveries*. *Biochem Pharmacol*, 2000. **59**(1): p. 13-23.
268. Benedict, C.R., et al., *Comparative neurohormonal responses in patients with preserved and impaired left ventricular ejection fraction: results of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) Registry. The SOLVD Investigators*. *J Am Coll Cardiol*, 1993. **22**(4 Suppl A): p. 146A-153A.
269. Sengenès, C., et al., *[Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human fat cells]*. *Med Sci (Paris)*, 2005. **21**(1): p. 61-5.
270. Vanlangenakker, N., et al., *Molecular mechanisms and pathophysiology of necrotic cell death*. *Curr Mol Med*, 2008. **8**(3): p. 207-20.
271. Lopez-Soriano, J., et al., *Leptin and tumor growth in rats*. *Int J Cancer*, 1999. **81**(5): p. 726-9.
272. Marks, D.L., et al., *Differential role of melanocortin receptor subtypes in cachexia*. *Endocrinology*, 2003. **144**(4): p. 1513-23.
273. Scarlett, J.M., et al., *Regulation of central melanocortin signaling by interleukin-1 beta*. *Endocrinology*, 2007. **148**(9): p. 4217-25.
274. Hayashi, K., et al., *Xanthine oxidase inhibition improves left ventricular dysfunction in dilated cardiomyopathic hamsters*. *J Card Fail*, 2008. **14**(3): p. 238-44.
275. Zhao, L., et al., *Chronic xanthine oxidase inhibition following myocardial infarction in rabbits: effects of early versus delayed treatment*. *Life Sci*, 2008. **82**(9-10): p. 495-502.
276. Aikawa, R., et al., *Reactive oxygen species induce cardiomyocyte apoptosis partly through TNF-alpha*. *Cytokine*, 2002. **18**(4): p. 179-83.

277. Jia, Y.T., et al., *Sustained activation of nuclear factor-kappaB by reactive oxygen species is involved in the pathogenesis of stress-induced gastric damage in rats*. Crit Care Med, 2007. **35**(6): p. 1582-91.
278. Allen, D.L., et al., *Apoptosis: a mechanism contributing to remodeling of skeletal muscle in response to hindlimb unweighting*. Am J Physiol, 1997. **273**(2 Pt 1): p. C579-87.
279. Krack, A., et al., *The importance of the gastrointestinal system in the pathogenesis of heart failure*. Eur Heart J, 2005. **26**(22): p. 2368-74.
280. Mackenzie, M.L., et al., *A proinflammatory tumor that activates protein degradation sensitizes rats to catabolic effects of endotoxin*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2005. **289**(4): p. E527-33.
281. Mandrekar, P., et al., *Alcohol exposure regulates heat shock transcription factor binding and heat shock proteins 70 and 90 in monocytes and macrophages: implication for TNF- α regulation*. J Leukoc Biol, 2008.
282. Communal, C., et al., *Opposing effects of beta(1)- and beta(2)-adrenergic receptors on cardiac myocyte apoptosis : role of a pertussis toxin-sensitive G protein*. Circulation, 1999. **100**(22): p. 2210-2.

Publikationsverzeichnis

“The effects of xanthine oxidase inhibitors oxypurinol and allopurinol in experimental cancer cachexia”, Springer et al.

In: 4th Cachexia Conference, Tampa, USA, Kongressband, 2007

“The effects of xanthine oxidase inhibitors oxypurinol and allopurinol in experimental cancer cachexia”, Springer et al.

In: The Endocrine Society`s Annual Meeting, San Francisco, USA, 2008

“The xanthine oxidase inhibitors oxypurinol and allopurinol reduce wasting and improve cardiac function in experimental cancer cachexia”, Springer et al.

In: 75. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, Mannheim, 2009

“The xanthine oxidase inhibitors oxypurinol and allopurinol reduce wasting and improve cardiac function in experimental cancer cachexia”, Springer et al.

In: Journal of Cardiac Failure, Volume 15, Issue 6, Supplement 1, 2009

“The xanthine oxidase inhibitors oxypurinol and allopurinol reduce wasting and improve cardiac function in experimental cancer cachexia”, Springer et al.

In: Heart Failure Congress, Nizza, Frankreich, 2009

“Xanthine oxidase inhibition improves cardiac function and reduces wasting in experimental cancer cachexia”, Tschirner et al.

eingereicht für: Heart Failure Congress 2010

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Anker, zuvorderst für die Überlassung des Themas, aber auch für die Bereitstellung der benötigten Räumlichkeiten, Geräte und Materialien, für die Möglichkeit zur Teilnahme an der Kachexie-Konferenz und natürlich für die Unterstützung während der Erstellung der Arbeit. Herrn Prof. Gruber möchte ich für die Zusage zur Betreuung meiner Arbeit und für die vielen Verbesserungsvorschläge meinen Dank aussprechen.

Herrn Dr. Jochen Springer möchte ich herzlich für seine Hilfe und konstruktive Kritik in jeder Phase der Erstellung dieser Arbeit danken. Desweiteren danke ich Frau Sandra Palus und Herrn Arne Hillmann, Frau Dr. Nadine Möller, Herrn Prof. Yoshihiro Akashi und Herrn Dr. Dr. Wolfram Döhner aus der AG Anker für verschiedenste, gleichwohl allesamt wichtige Tätigkeiten, Hilfestellungen und Erklärungen.

Besonderer Dank gebührt meinen Kolleginnen, Frau Tanja Braun, Frau Valerie Flach, Frau Bettina Fritze und Frau Katja Schmidt, ohne die diese Arbeit nicht hätte stattfinden können.

Nochmals Dank an Tanja und Katja für ständige telefonische Bereitschaft und gegenseitige Aufmunterung während des Schreibens.

Ein Dank an Tanja und Steffi für die Bereitschaft zum Korrekturlesen.

Ich bedanke mich bei Frau Cristina Campean, Herrn Giuseppe Leo, Herrn Sassan Metzger, Frau Wiebke Hauschildt, Frau Carina Cieplik und Herrn Alexandros Nikolouzos dafür, dass sie mich während der ganzen Zeit bei sich haben wohnen lassen.

Dank an meine Freunde, die wissen, dass ich sie toll finde.

Dank an meine Schwestern Stephanie und Sonja, an Jamil Zaid und Tillmann, Linus und Paula Bell, die mich immer unterstützt haben (oder es, wie im Fall von Linus und Paula, bestimmt getan hätten, wenn sie nur wüssten, was ich da überhaupt in Berlin mache).

Der letzte und zugleich grösste Dank geht an meine Eltern, für alles.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe.
Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Kai Hartmann

Berlin, den 07.03.2010

edition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-5523-3



9 78 3 835 9 5523 3