

Aus dem Charité Centrum für Chirurgische Medizin
Klinik für Allgemein-, Visceral-, Gefäß- und Thoraxchirurgie

Direktor: Prof. Dr. med. J. M. Müller

Habilitationsschrift

Multimodale Therapiekonzepte zur Behandlung der Peritonealkarzinose im Rattenmodell

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach

Chirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät

Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Jens Hartmann

geboren am 29.07.1965 in Erfurt

Eingereicht: Juni 2010

Dekanin: Prof. Dr. A. Grüters-Kieslich

1. Gutachter: Prof. Dr. Karl W. Jauch
2. Gutachter: Prof. Dr. Hans Peter Bruch

Inhaltsverzeichnis	Seite
1. Einleitung	5
1.1. Peritoneum	6
1.2. Peritonealkarzinose	9
1.3. Therapie	10
1.3.1. Allgemeine Grundlagen	10
1.3.2. Tumordebulking durch zytoreduktive Chirurgie	12
1.3.3. Hypertherme Intraoperative Peritoneale Chemotherapie	13
1.3.3.1. Mitomycin C	15
1.3.3.2. Gemcitabin	16
1.3.4. Taurolidin	17
1.3.5. Photodynamische Therapie (PDT)	18
2. Fragestellungen der Studie	19
3. Material und Methode	20
3.1. Fallzahlbestimmung	20
3.2. Versuchsablauf	21
3.2.1. zeitlicher Versuchsverlauf	21
3.2.2. Tierart und Tumorzelllinie	22
3.2.2.1. Tierart	22
3.2.2.2. Tumorzelllinie und Zellaufbereitung	23
3.2.3. Tumorimplantation	24
3.2.4. Randomisierung und Versuchsgruppen	25
3.2.5. Therapie	26
3.2.5.1. Operation (Tumordebulking)	26
3.2.5.2. HIPEC mit Mitomycin C (G3)	29
3.2.5.3. Taurolidinspülung (G4)	30
3.2.5.4. HIPEC mit Gemcitabine (G5)	31
3.2.5.5. Photodynamische Therapie (PDT) (G6)	31
	Seite

3.3. Zusätzliche Untersuchungen	33
3.3.1. Tierverhalten und Gewichtskontrolle	33
3.3.2. Echokardiografie	34
3.3.3. Laboruntersuchung	35
3.4. Abschluss der Versuchsreihe (Tötung und Obduktion)	35
3.5. Statistik	36
4. Ergebnisse	37
4.1. Tumorresponse	37
4.2. operatives Tumordebulking	37
4.3. perioperative Mortalität	41
4.4. Therapieergebnisse	42
4.4.1. Tumormasse	42
4.4.2. experimental Peritoneal Carcinosis Index (ePCI)	45
4.5. Toxizität	47
4.5.1. postoperatives Tierverhalten	47
4.5.2. Gewichtsverhalten	48
4.5.3. Echokardiografie	50
4.5.3.1. Effekte in den Behandlungsgruppen	50
4.5.3.2. 2D Strain Echokardiografie	56
4.5.4. Laboruntersuchung	59
4.5.4.1. Hämoglobin (Hb)	59
4.5.4.2. Leukozyten	62
5. Diskussion	64
5.1. Tumormodell	65
5.2. experimental Peritoneal Carcinomatosis Index (ePCI)	67
5.3. Ergebnis zytoreduktive Chirurgie	69
5.4. Therapieverlauf	71
5.5. Therapieergebnisse	74

Seite

5.5.1. Therapieergebnis - Tumormasse	75
5.5.2. Therapieergebnis - ePCI	77
5.6. Toxizitätsanalyse	79
5.6.1. Tierverhalten und Gewicht	80
5.6.2. Echokardiografie	83
5.6.3. Laboruntersuchung	85
5.6.3.1. Hämoglobin	86
5.6.3.2. Leukozyten	88
6. Schlussfolgerung	90
7. Aussichten	91
8. Zusammenfassung	92
9. Abkürzungsverzeichnis	94
10. Übersicht Abbildungen und Tabellen	96
10.1. Abbildungen	96
10.2. Tabellen	98
11. Literatur	99
12. Danksagung	114
13. Eidesstattliche Erklärung	115

1. Einleitung

Die Peritonealkarzinose mit der Tumorausbreitung im Bereich der Peritonealoberfläche der Bauchhöhle, die 1931 erstmalig von Sampson bei einem Ovarialkarzinom beschrieben wurde, ist am häufigsten auf Grund einer Metastasierung eines gastrointestinalen, eines Pankreas- oder eines Ovarialkarzinoms anzutreffen(1).

Seltener zeigt sich eine primäre Peritonealkarzinose im Sinne eines peritonealen Mesothelioms, Pseudomyxoma peritonei oder Sarkoms. Auf Grund der großen Oberfläche des Peritoneums ist dabei eine rasche Ausbreitung des Tumors zu verzeichnen.

Die zwei größten in der Literatur zu recherchierenden Studien weisen für die Peritonealkarzinose eine mittlere Überlebenszeit von 6 Monaten aus (2;3).

Mit dem von Sugarbaker entwickelten Therapiekonzepts der Verbindung einer zytoreduktiven Chirurgie (Tumoredebulking) bis hin zur kompletten Peritonektomie mit zusätzlicher **Hyperthermer Intraoperativer Peritonealer Chemotherapie (HIPEC)** konnten bei entsprechender Patientenselektion erste Erfolge hinsichtlich eines kurativen Behandlungsansatzes gefunden werden (4;5). Diese Ergebnisse konnten in einer ersten prospektiv randomisierten Studie aus der Amsterdamer Arbeitsgruppe von Zoetmulder und Verwaal bei Peritonealkarzinose durch ein kolorektales Karzinom bestätigt werden. In dieser Studie wurde in der Therapiegruppe mit Operation und HIPEC ein 25%iges Fünfjahresüberleben gegenüber 0% in der mit palliativer Chemotherapie behandelten Kontrollgruppe erzielt(6). Auch die erste europäische Sammelstatistik durch Elias konnte diesen Trend nachvollziehen(7).

Die von Sugarbaker entwickelte Prozedur basiert vor allem auf theoretischen und empirischen Ansätzen. Die zunehmende Bedeutung des multimodalen therapeutischen Vorgehens bei Peritonealkarzinose führt gegenwärtig zur parallelen Entwicklung unterschiedlicher experimenteller Modelle weltweit. Die vorliegende Arbeit zeigt die Entwicklung eines multimodalen Therapiemodells bei Vorliegen einer Peritonealkarzinose im Rattenmodell.

1.1. Peritoneum

Das Peritoneum besteht aus einem parietalen und einem viszeralem Anteil. Dabei bildet das parietale Peritoneum die Hülle der Bauchhöhle für die in diesem Raum liegenden Organe wie Leber und Milz, dem Magen-Darm-Trakt und dem Mesenterium. Bauchwand und Eingeweide sind zwischen dem Peritoneum parietale und dem Peritoneum viszerale durch einen Kapillarspalt getrennt, der freie Beweglichkeit der Eingeweide zulässt.

Das Peritoneum ist mesodermalen Ursprungs. Es besteht aus einer Mesothel von einer Gesamtfläche von ca. 2m² in Form einer einschichtigen polygonalen, abgeflachten verformbaren Zellschicht von 2,5 – 3µm Schichtdicke. Diese Zellen liegen einer dünnen fibroelastischen Schicht von 400-700Å der Basalmembran auf, besitzen Mikrovilli und sind breitflächig untereinander verzahnt. Zwischen ihnen befinden sich Lakunen (Stomata). Diese dienen als Pforten für den Austausch von Lymphozyten, Makrophagen und Lymphe in die Bauchhöhle und aus dieser heraus. Auch Erythrozyten passieren diese Spalten mühelos. Mesothelzellen regenerieren sich aus Retikulumzellen und Fibroblasten.

Das subseröse Bindegewebe ist elastisch und wird von Blutgefäßen und Lymphbahnen durchzogen. Im Centrum tendineum des Zwerchfells findet sich eine besonders hohe Dichte an Lymphbahnen.

Die arterielle Versorgung des parietalen Peritoneums erfolgt über Äste der Aa. phrenicae inferiores, Aa. epigastricae sup. et inf., Aa. intercostales (6.-11.), Aa. subcostales, Aa. lumbales und Aa. obturatoriae. Die arterielle Versorgung des viszeralem Peritoneums wird über Äste der entsprechenden Organarterien gewährleistet, die bei Verwachsungen mit den parietalen Arterien kommunizieren können.

Der venöse Abfluss des parietalen Peritoneums erfolgt über die longitudinalen ventralen Venen zu den Vv. thoracicae internae und oberer Hohlvene sowie caudal zu den Vv. iliaca externa und V. iliaca communis zur unteren Hohlvene. Ein weiterer Abfluss findet über segmentale Venen zu den Vv. azygos und hemiazygos zur V. cava superior statt. Die Venen des viszeralem Peritoneums verlaufen in die zugehörigen Organvenen und von da aus über die V. portae in die Leber. Ein kleiner Teil der Leberkapsel-, Magenfundus- und Milzkapselvenen führen Blut zu den Vv. phrenicae inferiores. Die Venen des kleinen Netzes haben auch Anschluss zu den Vv. oesophageae.

Die Lymphgefäße laufen in typischer Weise parallel zu den Arterien. Dabei verlaufen die L. peritoneum parietale ventrale et laterale in die lateralen

Thoraxwandkollektoren, die L. peritoneum perietale dorsale in lumbale Lymphstämme und Ductus thoracicus. An der Zwerchfellunterseite verlaufen Lymphgefäße transdiaphragmal zu mediastinalen Lymphbahnen und Ductus thoracicus.

Das parietale Peritoneum wird sowohl durch somatische als auch durch viszerale afferente Nerven innerviert, wobei die Innervation in Abhängigkeit von der Topographie unterschiedlich ausgeprägt ist. So ist die anteriore Seite des parietalen Peritoneums besonders sensibel für Schmerzreize, während das Peritoneum des Beckens deutlich weniger sensibel ist. Aufgrund der afferenten Versorgung mit Schmerzfasern wird im Falle einer Reizung eine reflektorische Kontraktion der Muskulatur hervorgerufen. Das viszerale Peritoneum erhält seine afferente Innervation dagegen nur vom autonomen Nervensystem. Es reagiert vorrangig auf Zug und weniger auf Druck. Im viszeralen Peritoneum scheinen nur wenige Rezeptoren vorhanden zu sein, die auf Schmerz- und Temperaturunterschiede reagieren. Die Wurzel des Mesenteriums und die extrahepatischen Gallenwege sind besonders gut innerviert.

Embryonal entwickelt sich die Peritonealhöhle aus den beiden Coelomhöhlen, nachdem der Gastrointestinaltrakt aus dem Entoderm des Dottersacks geformt wurde. Anfangs sind die beiden Coelomhöhlen noch durch das ventrale und dorsale Mesenterium getrennt. Im Laufe der Entwicklung vereinigen sich die beiden Höhlen ventral. Das ventrale Mesenterium bildet sich bis auf das Omentum minus zurück. Im hinteren Mesenterium bilden sich die Gefäße und Nerven für die intraabdominellen Organe.

Die Milz entsteht aus mesodermalen Zellen im hinteren Mesoderm und wandert in den linken Oberbauch. Durch die zusätzliche Drehung des Magens entsteht die Bursa omentalis im Oberbauch, die nur noch über das Foramen Winslowii mit der Bauchhöhle in Kontakt steht. Die beiden Anteile des Peritoneums haben verschiedene embryologische Ursprünge: Das parietale Peritoneum entsteht aus dem somatischen Mesoderm und das viszerale Peritoneum aus dem Mesoderm des Splanchnikus.

Physiologisch hat das Peritoneum eine wichtige Membran- und Transportfunktion für Wasser und Elektrolyte sowie andere kleine Moleküle. Einige Makromoleküle können diese Membran ebenfalls passieren. Der Fluss durch die Peritonealmembran ist grundsätzlich bidirektional zwischen der Bauchhöhle und dem Plasma. Kleine Moleküle passieren die Membran durch Diffusion (Wasser, Natrium und Kalium) oder durch Konvektion (Harnstoff und Kreatinin).

Der transperitoneale Stoffaustausch hängt von der Temperatur und der Hydratation des Organismus, dem intraperitonealen und dem plasmatischen onkotischen Druck sowie der Dicke des Peritoneums ab. Große Moleküle werden in erster Linie durch Öffnungen lymphatischer Endgefäße auf der muskulären Unterseite des Zwerchfells absorbiert(8).

1.2. Peritonealkarzinose

Peritonealkarzinose ist die Ausbreitung von Tumorzellen auf der Peritonealoberfläche. Man unterscheidet dabei primäre von sekundären Formen. Die primäre Peritonealkarzinose stellt dabei eher eine Seltenheit dar.

Die Erstbeschreibung der Peritonealkarzinose erfolgte durch Sampson im Jahre 1931 bei Vorliegen eines Ovarialkarzinoms(1).

Die Hauptwege der Metastasierung gastrointestinaler Tumoren sind die hämatogene Metastasierung über die Pfortader in die Leber, die lymphogene über die abführenden Lymphbahnen sowie die sekundäre Besiedlung des Peritoneums. Die peritoneale Metastasierung erfolgt dabei entweder durch Aussaat als Resultat einer Serosainvasion per continuitatem (9), durch spontane oder iatrogene Perforation durch die Serosa, durch isolierte freie Tumorzellen in der Bauchhöhle auch bei frühen Tumorstadien ohne Manipulation am Tumor (Tumorzellentrapment) (10), durch Blutverluste oder Gewebsflüssigkeit aus dem Operationsgebiet, in denen sich in über 90% der Fälle Tumorzellen nachweisen lassen, wobei Zellen aus dem Tumor über das Lymphsystem oder die Venen verschleppt werden(11), oder als Spätmetastasen in fortgeschrittenen Fällen wie bei vielen anderen Primärtumoren(12).

Nach Brodsky et al. weisen mehr als ca. 10% der Patienten zum Zeitpunkt der primären Diagnose und Therapie eines kolorektalen Karzinoms eine Peritonealkarzinose auf (13). Nach der Lebermetastasierung ist die Peritonealkarzinose der zweithäufigste Metastasierungsort eines kolorektalen Karzinoms. 10-35% des erneuten Tumorwachstums sind verbunden mit dem Auftreten einer Peritonealkarzinose (14;15). Die Einbeziehung des Peritoneums in die Tumorausbreitung stellt einen wichtigen prognostischen Faktor für kolorektale Karzinome dar, so dass auf Grundlage der prospektiven Studie von Shepherd et al. (16) zu diesem Thema die Arbeitsgruppe für kolorektale Karzinome der AJCC (American Joint Committee on Cancer) im Jahr 2000 empfohlen hat, die T4 Kategorie in T4b bei Einbeziehung des viszeralen Peritoneums zu modifizieren (17).

1.3. Therapie

1.3.1. Allgemeine Grundlagen

Die Peritonealkarzinose stellt auch heute noch einen limitierenden Faktor für die Lebenserwartung eines Tumorpatienten dar. Wurden bis vor kurzem bei Vorliegen einer Peritonealkarzinose nur palliative therapeutische Maßnahmen als indiziert angesehen, haben sich in den letzten Jahren neue Therapieansätze mit einer deutlichen Lebenszeitverlängerung und Lebensqualitätsverbesserung etabliert.

So konnte in ersten Studien für das peritoneale Mesotheliom nach vollständiger Peritonektomie und gleichzeitiger intraoperativer intraperitonealer Chemotherapie eine Dreijahreüberlebensrate von über 60%, bei einer mittleren Überlebenszeit von 30 bis 66 Monaten erreicht werden (18-20). Die in der Vergangenheit veröffentlichten Zahlen liegen im Gegensatz dazu bei einer mittleren Überlebenszeit von 9-12 Monaten(21;22).

In den USA werden jährlich 15000 Fälle einer Peritonealkarzinose auf Grundlage eines Kolonkarzinoms diagnostiziert, bei einer Inzidenz von 133000 Neuerkrankungen sowie 55000 Todesfällen pro Jahr bei kolorektalen Karzinomen (23). Unter der Option der zytoreduktiven Chirurgie in Verbindung mit der hyperthermen intraoperativen peritonealen Chemotherapie (HIPEC) konnte bei Vorliegen einer Peritonealkarzinose basierend auf einem Kolonkarzinom in einer prospektiv randomisierten Studie eine 5-Jahre-Überlebensrate von 25% erreicht werden. In der Vergleichsgruppe, die neben palliativen chirurgischen Maßnahmen zum Zeitpunkt der Studie die Standardchemotherapie erhielt, lag das Überleben bei 0% (6;24).

Die Erfolge palliativer systemischer Chemotherapien sind gering und wenig publiziert. In einer großen Metaanalyse von Köhne et al. lag die mittlere Überlebenszeit bei Vorliegen einer Peritonealkarzinose beim Kolonkarzinom unter palliativer Chemotherapie mit 5-FU/Folinsäure bei 7,7 Monaten und stellte damit einen wichtigen negativen prognostischen Marker in der Studie(25). In einer anderen Untersuchung wurden unter einer palliativen Therapie mit Irinotecan bei einem ähnlichen Krankengut vergleichbare Resultate berichtet(26)

Das Ziel neuer Therapien könnte dabei in der Reduktion bzw Entfernung der sichtbaren Tumormasse in Verbindung mit zusätzlicher antitumoraler

medikamentöser Behandlung oder anderen adjuvanten intraoperativen Therapien liegen. Diese Konzepte mit Tumordebulking und lokaler intraperitonealer Chemotherapie unter eventueller zusätzlicher Verwendung der lokalen Hyperthermie erbringen in klinischen Studien einen deutlichen Patientenbenefit (7;24;27-35).

Andere Optionen wie lokal zytostatisch wirksame Substanzen oder Therapien finden sich noch in tierexperimentellen Studienphasen(36-39). Bei der Untersuchung neuer komplexer Therapien muss im gleichen Ansatz das Ziel einer möglichst geringen Toxizität der Behandlung im Auge behalten werden.

1.3.2. Tumordebulking durch zytoreduktive Chirurgie

Das Ziel einer zytoreduktiven Chirurgie ist die vollständige Entfernung des makroskopisch sichtbaren Tumors.

Dabei kann es sich nur um einzelne Tumorknoten im Bereich des Peritoneums handeln. Oder es ist bei ausgeprägtem Befall eine vollständige Entfernung des parietalen Peritoneums (Peritonektomie) mit eventuellen multiviszeralen Resektionen erforderlich.

Durch das von Sugarbaker systematisch entwickelte Procedere der Peritonektomie können heute auch ausgedehnte Fälle mit peritonealer Karzinose im klinischen Alltag erfolgreich behandelt werden(5).

Bei diesem Vorgehen wird systematisch der Tumor in den einzelnen Quadranten des Abdomen unter Mitnahme des parietalen Peritoneums entfernt. Dies kann bis hin zu multiviszeralen Resektionen führen.

Der Befall des viszeralen Peritoneums vor allem im Bereich des Dünndarms stellt einen limitierenden Faktor dieses operativen Vorgehens dar. In einigen Untersuchungen konnte bewiesen werden, dass nur bei vollständig durchgeführter Tumorreduktion bzw. bei mikroskopischen Tumorresten eine weitere adjuvante Therapie einen Vorteil hinsichtlich der Rezidivfreiheit und der Überlebenszeit hat(40-46).

Zur Beschreibung der Tumorlast sowie des Therapieerfolges hinsichtlich der erzielten Tumorreduktion wurden unterschiedliche Scores entwickelt(47-50). Sie stellen in verschiedenen Untersuchungen einen Bemessungsmaßstab als prognostischen Faktor auf das Outcome hinsichtlich Rezidivfreiheit und Überleben der Patienten dar, wie es Kübler in einer Übersichtsarbeit dargestellt hat(51;52).

Der Erfolg einer weitestgehend vollständigen operativen Tumorentfernung ist einer der entscheidenden Gründe für eine erfolgreiche Therapie im Rahmen des multimodalen Konzeptes.

In der gegenwärtigen Literatur lassen sich einzelne tierexperimentelle Untersuchungen mit einem operativen Ansatz zu solch einem Vorgehen finden, die zeitgleich zu unserem Experiment entwickelt wurden(53-55). Dies unterstreicht die Bedeutung des experimentellen Ansatzes. Ein Hauptziel der vorliegenden Arbeit stellt die Entwicklung einer operativen Zytoreduktion im Rattenmodell mit Reproduzierbarkeit des Vorgehens für andere Versuche dar.

1.3.3. Hypertherme intraoperative peritoneale Chemotherapie (HIPEC)

Seit den Ursprüngen der modernen Medizin ist die Behandlung mit Hitze fester Bestandteil der Heilkunst. Ursprünglich wurden dabei Wunden und Tumore in Form der Cauterisation behandelt(56).

In der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts gab es mehrere Kasuistiken zu Spontanheilungen fortgeschrittener Tumorleiden nach hohem Fieber(57;58).

Über den ersten gezielten Einsatz einer lokalen hyperthermen Therapie bei fortgeschrittenen Sarkomen mittels Erzeugung eines Erysipels durch Inoculation eines „Erysipel-Toxins“ (Coley´s toxin) wird von Coley 1893 in New York berichtet (59). Dabei kam es in einer Serie von 10 Patienten nach der beschriebenen Therapie zu einer Tumorregression. 1980 beschrieb Spratt erstmalig die Technik einer hypertherm angewandten Chemotherapie und verhalf der Hyperthermie zu einer Renaissance(60). Heute werden hypertherme Verfahren in verschiedenster Weise in der Tumorbehandlung als alleinige oder Kombinationstherapie im Sinne einer hyperthermen Radio- und/oder Chemotherapie verwendet(61-67).

Die Hyperthermie weist dabei einen eigenen zytostatischen Effekt auf. Dieser Effekt ist zunächst auf eine Denaturierung von Zellproteinen mit Folgeprozessen in der Zelle begründet(68). So werden durch Hyperthermie die Enzymsysteme für Reparationsvorgänge an der DNS und deren Angriffspunkte an der DNS Matrix beeinflusst(69;70). Solche Prozesse werden bei Temperaturen von 40–42°C beobachtet(71;72). Weitere nachgewiesene Vorteile der Kombination aus Hyperthermie und Chemotherapie finden sich in der Erhöhung der Penetration der Zytostatika ins Gewebe sowie der Steigerung der Zytotoxizität der Chemotherapeutika(73;74).

Basierend auf diesen Erfahrungen wird im klinischen Behandlungskonzept der Peritonealkarzinose eine hypertherme intraoperative peritoneale Chemotherapie (HIPEC) durchgeführt. Eine Reihe pharmakologischer Studien haben die Wirksamkeit und die Toxizität einer solchen Therapie im Tiermodell sowie in klinischen Studien untersucht(75-86).

Dedrick postulierte dabei die Abhängigkeit der Peritoneal-Plasma-Schranke von der Molekulargröße des Zytostatikums sowie der Permeabilität des Peritoneums. Er schlussfolgert außerdem, dass ein Großteil des resorbierten Zytostatikums über die Pfortader resorbiert wird und dadurch ein hoher intrahepatischer Zytostatikaspiegel erzielt wird(87).

Brenner hat 1986 für den Einsatz von intraperitonealen Chemotherapeutika Richtlinien für diesen abgeleitet. Sie umfassen vier Punkte. Das Zytostatikum sollte die Tumorzellen direkt abtöten oder in den Metabolismus des Tumorgewebes eingreifen. Es sollte eine geringe Peritonealpermeabilität besitzen. Das Zytostatikum sollte rasch aus dem Plasma entfernt werden und sollte eine entsprechende Dosis-Wirksamkeits-Beziehung besitzen(88).

Los et al. untersuchten im Rattenmodell die Eindringtiefe des Chemotherapeutikums im Tumorgewebe. Sie konnten nur bis 2mm Tiefe eine therapeutisch wirksame Konzentration nachweisen(89). Dies wurde auch in den Untersuchungen der Erlanger Gruppe von Pelz et al. bestätigt(90).

Basierend auf dieser Untersuchung erklärt sich die Notwendigkeit einer weitestgehend vollständigen chirurgischen Zytoreduktion im multimodalen Behandlungskonzept. Verschiedene Zytostatika erfüllen die Erfordernisse für einen sinnvollen intraperitonealen Einsatz. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt wird von den meisten Arbeitsgruppen weltweit Mitomycin C bei der Behandlung der Peritonealkarzinose basierend auf einem kolorektalen Karzinom als Medikament der Wahl eingesetzt (46).

1.3.3.1. Mitomycin C

Mitomycin C (MMC), ein antitumoral wirksames Antibiotikum, gehört zu den bisher meist analysierten Chemotherapeutika zur intraperitonealen Anwendung. Seine Wirkung beruht auf einer DNA Bindung und daraus resultierender Hemmung der DNS Synthese. In höheren Dosen führt es zusätzlich zur Hemmung der zellulären RNS- und Proteinsynthese(91).

Die Nutzung von Mitomycin C zur intraperitonealen Anwendung basiert auf verschiedenen Voraussetzungen, die das Medikament für diese Applikation prädestinieren. Einerseits ist seine Wirkung unabhängig vom Zellzyklus und es ist damit schon nach kurzer Expositionszeit direkt wirksam, hat ein hohes Molekulargewicht von 334 Dalton und verbleibt somit über längere Zeit intraperitoneal. Zusätzlich ist es gut wasserlöslich und kann damit unproblematisch appliziert werden und außerdem wird es rasch aus dem systemischen Kreislauf ausgeschieden(91). Sein zytotoxischer Effekt wird nachweislich durch Hyperthermie erhöht(92).

Die Wirksamkeit des Medikaments bei intraperitonealer Applikation wurde in Studien bei Peritonealkarzinose durch kolorektale Karzinome, Magenkarzinome und beim Pseudomyxoma peritonei nachgewiesen(30;93-95). Van Ruth et al. kommen in einer Zusammenfassung der unterschiedlichen Studien zur Pharmakokinetik zum Ergebnis, dass ihrer Ansicht nach die zurzeit optimale Dosierung im mittleren Bereich der analysierten Schemata liegt (91). Eine zu niedrige Dosierung hat auf Grund der relativ kurzen Halbwertszeit und der raschen systemischen Clearance keine ausreichende Wirkung, mit ansteigender Dosis ist aber eine zunehmende Toxizität mit ausgeprägter Leukopenie zu beobachten(96). Die empfohlene Dosierung beträgt 15 mg/m² KO(97).

Das Vorgehen mit MMC muss nach Studienlage zum gegenwärtigen Zeitpunkt als Standardtherapie für die intraperitoneale Chemotherapie bei der Peritonealkarzinose basierend auf einem kolorektalem Karzinom angesehen werden(6;7;30;31;46;98;99). Alle anderen in der Versuchsreihe verwendeten Substanzen müssen sich an der Wirksamkeit und der Toxizität dieses Medikamentes messen lassen.

1.3.3.2. Gemcitabine

Der Pyrimidinantimetabolit Gemcitabine (2,2- Difluorodeoxycytidine) besitzt nachgewiesenerweise eine breite antineoplastische Aktivität und bildet heute schon die Grundlage für zahlreiche chemotherapeutische Protokolle (100). Gemcitabine ist ein Nukleosidanalogen des natürlichen Deoxycytidin, welches zu einer speziellen Inhibition in der S-Phase der Zellteilung führt. Dabei erfolgt die Metabolisierung des Medikamentes intracellulär in die aktive Substanz, welche zur Hemmung des Enzyms Ribonukleotid Reduktase führt. Eine Plasma- Eiweiß – Bindung zeigt sich nur in 10% (81).

Verschiedene Studien konnten die Wirksamkeit von Gemcitabine als Mono- oder Kombinationstherapie bei der Behandlung solider Tumoren nachweisen bei systemischer sowie intraperitonealer Applikationsform(101-104). Dabei konnte neben dem guten therapeutischen Effekt eine deutliche Reduktion von hämatologischen und gastrointestinalen Nebenwirkungen erzielt werden (105).

In einer Studie von Ridwelski et al. konnte im Rattenmodell eine signifikante Reduktion der Tumormasse einer implantierten Adenokarzinomzelllinie nach intraperitonealer Gabe von Gemcitabine erreicht werden (39). Die vorliegenden klinischen und experimentellen Studien zeigen die Wirksamkeit des Medikamentes auch bei Kolonkarzinomzellen(103;105-108).

Ohguri et al. haben eine Effektsteigerung hinsichtlich der Wirksamkeit von Gemcitabine im Zusammenhang mit lokaler Hyperthermie beim fortgeschrittenen Pankreaskarzinom gezeigt(109).

Ein Nachweis der Wirkung in einem multimodalen Modell bezüglich der Wirksamkeit und der Toxizität lässt sich in der Literatur nicht finden. Diese soll in unserem Experiment im Vergleich zu anderen Therapien analysiert und dargestellt werden. Dazu soll eine Dosierung von 24mg /kg KG Gemcitabine nach der Erfahrung anderer Studien genutzt werden(108).

1.3.4. Taurolidin

Taurolidin, ein Derivat der Aminosäure Taurin, wird seit vielen Jahren erfolgreich in der septischen Allgemeinchirurgie sowie seit 1980 in der Traumatologie als Spüllösung zur Behandlung von Infektionen genutzt(110).

Es zählt aufgrund seiner Abtötungszeit für Bakterien nicht zu den Antiseptika, sondern zu den lokal wirksamen Chemotherapeutika(111). Bei Bakterien wurde nachgewiesen, dass Taurolidin durch eine Übertragung von Hydroxymethylgruppen an der Zellwand zu einer Hemmung der Teilung des Bakteriums führt(112). In tierexperimentellen Studien wurde aber auch bereits ein tumorsupprimierender Effekt nachgewiesen. Dieser Effekt basiert wahrscheinlich auf den ausgesprochen antiadhärenten und zytotoxischen Eigenschaften des Chemotherapeutikums(113;114).

Der Pathomechanismus ist aber gegenwärtig nicht vollständig geklärt. Neben der apoptosereduzierenden Wirkung des Taurolins und seiner Mediatoren scheint eine intraperitoneale Wachstumshemmung der Tumorzellen durch verminderte Synthese von Interleukinen wie IL-1 β eine Rolle zu spielen(115). Bei der lokalen intraperitonealen Gabe von Taurolidin lässt sich eine rasche Absorption über das Peritoneum nachweisen. Eine Biotransformation von Taurultam im Plasma erfolgt innerhalb von 1-2h. Eine zusätzliche Testung zeigte in Versuchen selbst bei hohen intravenösen Dosen außerordentlich geringe unerwünschte Nebenwirkungen(36).

Unsere Versuchsreihe erfolgt mit der intraperitonealen isothermen kontinuierlichen Spülung von 250ml 0,5 % Taurolidin über 30min nach erfolgtem Tumordebulking. Untersuchungen zur hyperthermen Verwendung von Taurolidin lassen sich unseres Wissens bisher nicht finden. Aus diesem Grund wird auf die Hyperthermie im Versuchsansatz verzichtet.

An unserer Klinik beschäftigt sich eine Arbeitsgruppe unter Leitung von Prof. Jacobi und Dr. Braumann seit mehreren Jahren mit der Tumorsuppression von Taurolidin und seiner Nebenwirkungen an verschiedenen Tiermodellen. Hierdurch gibt es ein ausgesprochen hohes Niveau an Vorkenntnissen zu ähnlichen Modellen(36;38;116-118).

Ein Nachweis der Wirkung und möglicher Nebenwirkungen des Medikamentes in Verbindung mit einem Tumordebulking wurde bisher nicht vorgenommen.

1.3.5. Photodynamische Therapie (PDT)

Die photodynamische Therapie basiert auf einer photochemisch- phototoxischen Reaktion zwischen einem Photosensitizer und monochromatischem Rotlicht (Wellenlänge 630nm). Die Photosensitizer (verschiedene Hämatoporphyrinderivate, 5- Aminolävulinsäure) werden systemisch appliziert(119;120).

Innerhalb einer je nach Substanz variierenden Zeit (6-48 h) kommt es zu einer hochselektiven Anreicherung des Sensitizers im Tumorgewebe(37). Durch die photochemisch-phototoxische Reaktion vermittelt durch Singlet-Sauerstoff kommt es zum Tumorzerfall. Obwohl auch im gesunden Gewebe Sensibilisator gespeichert wird, ist hier keine Schädigung durch Laserlicht zu befürchten. Kritisch sind aber die Wandstrukturen in der Umgebung des zerfallenden Tumors zu betrachten, die durch den schnellen Tumorzerfall in Mitleidenschaft gezogen werden können (121-123).

Allerdings können UV- und sichtbares Licht innerhalb eines limitierten Zeitraumes zu phototoxischen Effekten an der Haut führen, die eine Verdunklung der Räume nach der Therapie erzwingen. Da es aber zu keiner Akkumulierung der verwendeten Substanzen kommt, kann die Methode nach Einhalten einer „Auswaschzeit“ beliebig oft wiederholt werden(124;125).

Da die Eindringtiefe des Lichtes und damit der tumorzide Effekt des roten Laserlichts in Abhängigkeit des verwendeten Photosentizers nur 2-6 mm beträgt, ist eine operative Tumorreduktion bei der Peritonealkarzinose vor Durchführung der photodynamischen Therapie sinnvoll(126;127).

Unser Versuch soll den Effekt einer Tumorreduktion und der photodynamischen Therapie untersuchen und gleichzeitig eventuelle Komplikationen aufzeigen. In der Literatur findet sich bisher keine tierexperimentelle Studie zu diesem Studiendesign. Die photodynamische Therapie ist ein in unserer Klinik etabliertes Verfahren bei anderen Indikationen wie zur adjuvanten bzw. palliativen Behandlung von Gallengangskarzinomen.

2. Fragestellungen der Studie

Alle Studien, die in der Literatur zu finden sind, basieren auf Erfahrungen aus klinischen Therapieversuchen oder pharmakologischen Analysen. In den bisherigen Tiermodellen wurde vor allem die Wirksamkeit einzelner Chemotherapeutika untersucht. Einen multimodalen Versuchsansatz mit der Verbindung einer zytoreduktiven Chirurgie und den von uns ausgewählten intraoperativen adjuvanten Therapien im Tiermodell gibt es unseres Wissens bisher nicht. Der Zweck dieser Studie besteht somit in der Beantwortung folgender Fragen:

1. Ist ein solches multimodales Therapiekonzept im Kleintiermodell zu verwirklichen?
2. Ist es möglich ein Karzinoscore zur Reproduzierbarkeit der Ausdehnung des peritonealen Tumorbefalls auch im Kleintiermodell zu entwickeln?
3. Lässt sich ein chirurgisches Tumordebulking bei Peritonealkarzinose im Kleintiermodell erfolgreich durchführen?
4. Welche multimodale Therapieoption bei Peritonealkarzinose zeigt im Tiermodell den größten Benefit?
5. Wie ist die Verträglichkeit der Therapieoptionen und welche Belastungen wird durch die multimodale Therapie bei den Tieren hervorgerufen?
6. Welche Parameter können zur Analyse dieser Belastung herangezogen werden?
7. Sind die Ergebnisse reproduzierbar auf weitere Modelle mit anderen Fragestellungen?

3. Material und Methode

3.1. Fallzahlbestimmung

Als Grundlage für die Fallzahlbestimmung soll folgende Hypothese geprüft werden. Der zu prüfende Faktor ist Nullhypothese (H_0) ($\mu_1 = \mu_2$) gegen die Alternativhypothese (H_A) mit $\mu_1 \neq \mu_2$. Die Zielgröße (μ) entspricht dabei dem Hauptzielkriterium der Untersuchung, der Tumormasse in Gramm, zum Zeitpunkt des Untersuchungsendes. Die Mittelwertgröße μ_1 beträgt aus empirisch ermittelten Werten und Erfahrungen der Voruntersuchungen 4g Tumormasse nach Implantation im Peritoneum und Verlaufskontrolle nach ca. 21 Tagen. Die Annahme für μ_2 (Tumormasse unter Therapie) ist 3g und somit wird von einem Unterschied von 1g nach Therapieerfolg ausgegangen. Die Standardabweichung ist in allen Gruppen gleich und liegt bei $\sigma = 0,75g$. Der Fehler erster Art wird mit $\alpha = 0,05$ und der Fehler zweiter Art $\beta = 0,2$ angenommen. Daraus ergibt sich eine Power für den Test von 80%. Der errechnete Effizienzkoeffizient beträgt bei den oben angenommenen Mittelwerten und Fehlern $p_1 = P(X < Y) = 0,173$. Da in einem Tierversuch von einer Nichtgleichverteilung der Werte ausgegangen werden muss, ergibt sich für einen zweiseitigen parameterfreien Test (U-Test nach Man-Whitney) eine Fallzahl von 13 Tieren pro Gruppe. Die bisherigen Studien mit dem gleichen Tumormodell haben gezeigt, dass sich trotz geringer Belastung für die Tiere 2 Reservetiere pro Gruppe als sehr zuverlässige Größe zur sicheren Durchführung der Versuche erwiesen.

Die Fallzahlberechnung wurde erstellt unter Beratung Fr. Dipl.-math. Siebert, Institut für Epidemiologie und Biostatistik Charité Campus Mitte

3.2. Versuchsablauf

3.2.1. Zeitlicher Versuchsablauf

Das Versuchsprotokoll sieht einen strengen zeitlichen Ablaufplan zur Gewährleistung vergleichbarer Studienbedingungen für alle verwendeten Tiere vor. Nach einer Eingewöhnungszeit unter entsprechenden Bedingungen und einem Mindestgewicht von 180g wird den Tieren eine Peritonealkarzinose induziert. Zu diesem Zeitpunkt erfolgt die Markierung der Tiere durch Lochung der Ohren und Randomisierung in die Behandlungsgruppen (G1 –G6). 21 Tage nach der Tumorinduktion werden die Gruppen G2 bis G6 nach Protokoll behandelt. Die zusätzlich durchgeführten Untersuchungen wie Blutentnahme und Echokardiografie werden präoperativ, bzw. am 3. und 7. Tag postoperativ durchgeführt. Die Vergleichsuntersuchungen der Kontrollgruppe erfolgen zeitgerecht um den 21. Tag nach Tumorimplantation. 21 Tage nach stattgehabter Therapie bzw. 42 Tage nach Tumorimplantation werden alle beteiligten Tiere getötet und obduziert (Abb. 1).

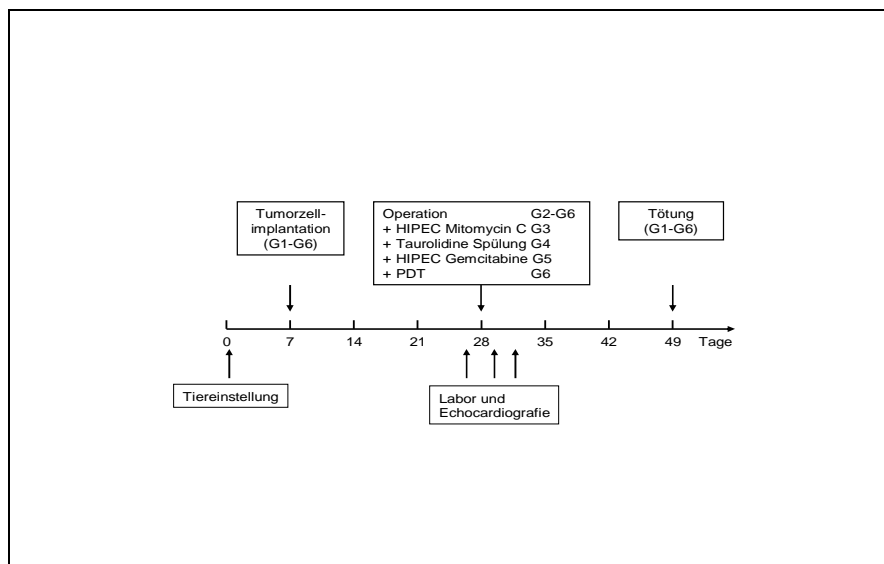


Abb.1: Zeitstrahl für den Versuchsablauf

3.2.2. Tierart und Tumorzelllinie

3.2.2.1. Tierart

Für die Untersuchung werden BD IX/ HansHd Ratten (Harlan Winkelmann, Borchten) verwendet. Alle Tiere sind männlich und haben zum Zeitpunkt der Untersuchung ein Gewicht von 180 bis 280g. Die Tiere werden während des Versuchsablaufs unter Standardlaborbedingungen gehalten.

Alle Ratten haben vor und nach den Experimenten und Untersuchungen freien Zugang zu Wasser und Nahrung und werden bei einem 12h Lichtzyklus gehalten.

Vor Beginn der Experimente haben die Tiere eine Ruhephase von 7 Tagen zur Eingewöhnung. Nach den Narkosen werden die Tiere bis zur vollen Wiederherstellung der Reflexe in Einzelboxen gehalten.

Die Haltung erfolgt damit in Übereinstimmung mit den internationalen Kriterien der UKCCCR (guidelines for the welfare of animals in experimental neoplasia)(128).

Der Antrag an die Tierschutzkommission wurde von der Senatsverwaltung für Gesundheit der Stadt Berlin unter der Registriernummer Reg 0210/04 genehmigt.

3.2.2.2. Tumorzelllinie und Zellaufbereitung

Die verwendete Tumorzelllinie ist eine syngenetische Adenokarzinomzelllinie des Kolons der Ratte DHD/K12/TRb (European Collection of Cell Cultures, Salisbury, England). Die Zellen werden als Suspension in tiefgefrorenem Zustand geliefert.

Nach Auftauen der Suspension in einem Wasserbad bei 37°C werden die Zellen in ein Nährmedium (1:1 Dulbecco MEM und Hams F10 Medium, Biochrom, Deutschland) überführt und mittels Acridine-Orange-Färbung und Fluoreszenzmikroskopie auf Vitalität geprüft. Anschließend wird die Zellsuspension für fünf Minuten mit 200 G zentrifugiert und in das Nährmedium resuspendiert. Die Inkubation der Zellen erfolgt im Brutschrank in einer Kulturflasche (75cm² /250ml) bei 37°C und einer CO₂-Konzentration von 5%.

Dem Nährmedium wird vorher 10% fetales Rinderserum, 1000U/l Penicillin-Streptomycin (beides Gibco BRL, Deutschland) und 2 ml Glutamin (Biochrom, Deutschland) zugesetzt. Bei erreichter Konfluenz werden die Zellen subkultiviert.

Hierzu werden die Zellen zunächst mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) gewaschen, anschließend 300 µl einer vorgewärmten Trypsin / EDTA Lösung (0,05% Trypsin / 0,02% EDTA) hinzugefügt und die Lösung erneut einige Minuten inkubiert.

Abgelöste Zellen werden nun aufgenommen, mit der doppelten Menge Medium versetzt, bei 200 G fünf Minuten zentrifugiert, im Medium- Zusatz Gemisch resuspendiert und in eine neue Kulturflasche pipettiert. Gleichzeitig werden von der gewonnenen Zellsuspension jeweils Proben a 10⁵ Zellen wieder eingefroren.

Die Zellen werden in Kryoröhrchen suspendiert, zentrifugiert und nach Abpipettieren des Überstandes in einem Stickstoffbehälter gelagert.

Für die Implantation im Tumormodell werden die Zellen wie oben beschrieben aufgetaut, ihre Vitalität erneut geprüft und die Zellzahl mittels Neubauer-Zählkammer bestimmt.

3.2.3. Tumorimplantation

Die Tiere werden durch intraperitoneale Injektion von 10mg/kg Körpergewicht Xylazinhydrochlorid (Rompun® 2%, Bayer Vital GmbH, Deutschland) und 80 mg/kg Körpergewicht Ketaminhydrochlorid (Ursotamin® , Serumwerke Bernburg, Deutschland) im Bereich des linken Unterbauches nach Anspannen einer Bauchfalte zur Vermeidung einer intraenterischen Applikation narkotisiert.

Die Spontanatmung bleibt bei dieser Narkose während des gesamten Experimentes erhalten. Nach Rasur der Bauchhaut und chirurgischer Hautdesinfektion und Tuchabdeckung erfolgt eine ca. 1 cm lange mediane Laparotomie. Es werden 2×10^5 Tumorzellen subperitoneal unter Sicht im rechten Oberbauch implantiert (Abbildung 2,3).

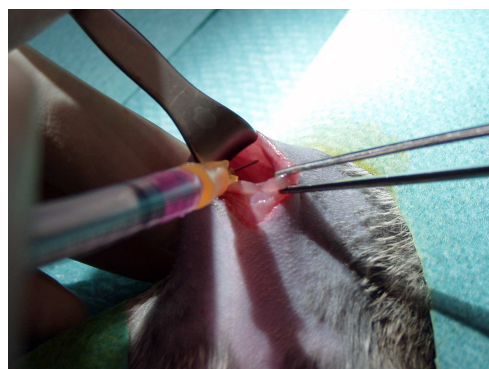
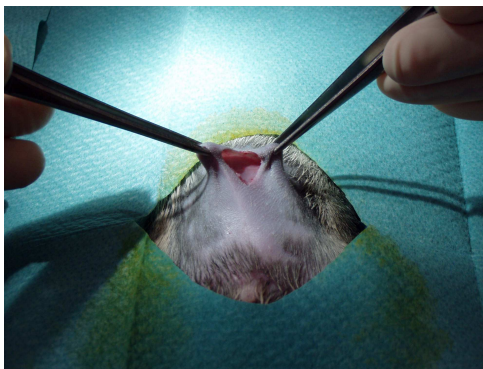


Abb.2 und 3: Tumorzellimplantation subperitoneal über Minilaparotomie im Oberbauch

Nach Implantation wird die Bauchdecke in zweireihiger fortlaufender Nahttechnik verschlossen. Der Faszienverschluss wird mit 3x0 Vicryl® (Ethicon, Deutschland), der Bauchhautverschluss mit 3x0 Vicryl-Rapid® (Ethicon, Deutschland) ausgeführt.

Nach erneuter Desinfektion wird ein Pflastersprayverband aufgebracht. Nach Markierung der Ratten durch eine Stanzmarke werden die Tiere bis zur vollständigen Wiederherstellung aller Reflexe in Einzelkäfigen gehalten.

Eine Schmerztherapie wird über die orale Zufütterung von Analgetika, Tramal® (Hexal, Deutschland), realisiert.

3.2.4. Randomisierung und Versuchsgruppen

Nach Durchführung der Implantation und Markierung der Tiere (Ohrlochmarkierung) werden dieselbigen randomisiert einer Therapiegruppe zugeordnet. Es werden insgesamt sechs Gruppen gebildet.

Jeder Gruppe sind nach Fallzahlbestimmung 15 Tiere zugehörig.

Folgende Gruppen werden gebildet.

- Gruppe 1: Kontrollgruppe (G1)
- Gruppe 2: nur operative Therapie (G2)
- Gruppe 3: Operation und HIPEC mit Mitomycin C (G3)
- Gruppe 4: Operation und Taurolidin Spülung (G4)
- Gruppe 5: Operation und HIPEC mit Gemcitabin (G5)
- Gruppe 6: Operation und PDT (G6)

Aus dieser Konstellation ergibt sich eine Gesamtzahl von 90 Tieren, die in die Untersuchung eingeschlossen werden.

Kontrollgruppe (G1)

Bei den Tieren dieser Gruppe wird nach der Tumorimplantation bis zum Zeitpunkt der Tötung keine weitere therapeutische Intervention durchgeführt. Sie dient als Vergleich zu allen anderen Therapiegruppen.

Therapiegruppen (G2 – G6)

Die Tiere der Therapiegruppen werden alle einer Operation mit zytoreduktiver Chirurgie mit dem Ziel einer vollständigen Entfernung des makroskopisch sichtbaren Tumors zugeführt.

Die Tiere der Gruppe G3 – G6 erhalten eine zusätzliche intraoperative Behandlung mit dem Ziel einer additiven Tumorbehandlung nach Randomisierung.

3.2.5. Therapie

3.2.5.1. Operation (Tumordebulking)

Die Tiere werden durch intraperitoneale Injektion von 10mg/kg Körpergewicht (KG) Xylazinhydrochlorid (Rompun® 2%, Bayer Vital GmbH, Deutschland) und 80 mg/kg KG Ketaminhydrochlorid (Ursotamin®, Serumwerke Bernburg, Deutschland) im Bereich des linken Unterbauches nach Anspannen einer Bauchfalte zur Vermeidung einer intraenterischen Applikation narkotisiert.

Die Spontanatmung bleibt bei dieser Narkose während des gesamten Experimentes erhalten.

Das Vorgehen ist identisch zur Tumorimplantation. Eine Wiederholung der Anästhesie ist ca. alle 40 min in halber Initialdosierung in den offenen Situs auf das Peritoneum notwendig.

Die Lagerung der Tiere wird auf einer Heizmatte bei 37°C zur Vermeidung von Auskühlung durchgeführt. Nach Rasur der Bauchhaut, chirurgischer Hautdesinfektion mit Braunovidon und Tuchabdeckung erfolgt eine mediane Laparotomie vom Xyphoid bis suprapubisch unter Mitnahme der Laparotomienarbe nach stattgehabter Tumorinduktion von ca. 6 bis 8 cm Länge.

Nach Eröffnung der Bauchhöhle wird initial der Tumorbefall registriert. Zu diesem Zweck wird von zwei unabhängigen Untersuchern die makroskopisch sichtbare Tumorknotenanzahl unter Nutzung von Lupenbrillen bestimmt.

Zusätzlich erfolgt die Analyse des Tumorbefalls modifiziert nach einer von Steller beschriebenen Ermittlung eines Index zur Ausdehnung der Peritonealkarzinose(129). Der von uns modifizierte Index wird im Weiteren erklärt und in der Arbeit als experimenteller Peritoneal Carcinomatosis Index (ePCI) bezeichnet.

Zu diesem Zweck wird der Situs in 4 Quadranten (Level I-IV, beginnend im rechten Oberbauch im Uhrzeigersinn) eingeteilt. Für jeden Quadranten (Level) wird ein Score von 0 bis 5 angegeben. 0 zeigt keinen sichtbaren Tumor, 1 entspricht einer Tumorgöße <0,5 cm, 2 einer Tumorgöße zwischen 0,5 bis 1cm Durchmesser, 3 einer Tumorgöße von 1 bis 2 cm, 4 einer Tumorgöße von 2 bis 3cm, Score 5 > 3cm Durchmesser. Der maximale ePCI beträgt 20. Bei einem ePCI von 0 ist makroskopisch kein Tumor nachweisbar (Abb. 4).

	ePCI Score		Tumorknotenanzahl	
	1	2	1	2
Untersucher				
Level I	—	—	—	—
Level II	—	—	—	—
Level III	—	—	—	—
Level IV	—	—	—	—
Gesamt	—	—	—	—

Abb.4: Übersicht Erstellung Tumorknotenanzahl und ePCI nach Untersucher

Die Tumorknoten werden schrittweise entfernt, beginnend im rechten Oberbauch. Dabei wird initial das parietale Peritoneum in den befallenen Abschnitten entfernt (Abb.5,6).

Anschließend erfolgt die Kontrolle des Mesenteriums im Bereich des Dick- und Dünndarms. Ebenfalls häufiger anzutreffende Tumorimplantate im kleinen Becken und im Bereich der Glisson Kapsel werden lokal exzidiert (Abb.7,8).

Größere Tumorimplantate im Darmbereich, im Leberhilus und im Milzhilus sind einer operativen Entfernung im Rattenmodell nicht zugänglich.

Die Entfernung des Tumors erfolgt unter Nutzung von Lupenbrillen und in bestimmten Situationen wie der Anlage von notwendigen Darmanastomosen unter dem Operationsmikroskop.

Nach Abschluss der operativen Tumorentfernung wird die Bauchhöhle mit isotoner Kochsalzlösung gespült und die Weiterbehandlung nach Therapieprotokoll durchgeführt.

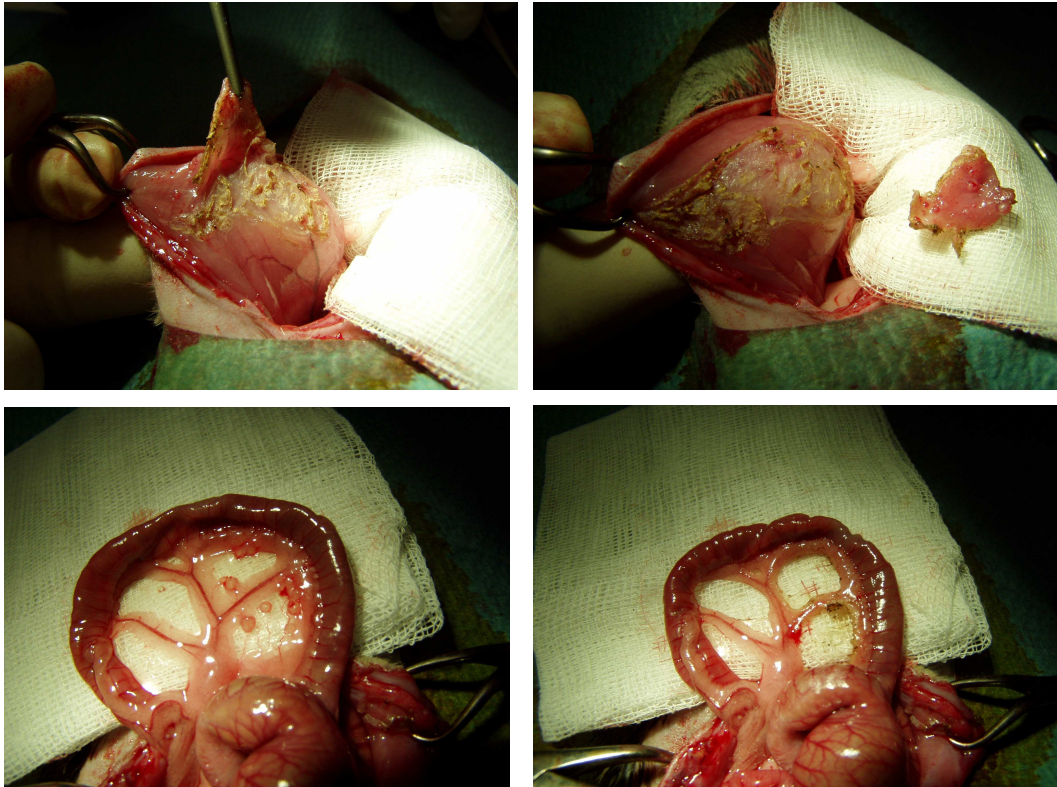


Abb.5-8: operatives Tumordebulking mit partieller Peritonektomie und Entfernung von Tumorknoten am Dünndarmperitoneum

Nach Beendigung der Therapie wird die Bauchdecke in zweireihiger fortlaufender Nahttechnik verschlossen. Die Naht der Faszie wird mit 3x0 Vicryl® (Ethicon, Deutschland) und die Bauchhaut mit 3x0 Vicryl-Rapid® (Ethicon, Deutschland) ausgeführt. Nach erneuter Desinfektion wird ein Pflastersprayverband aufgebracht.

Die Tiere werden bis zur vollständigen Wiederherstellung aller Reflexe in Einzelkäfigen gehalten. Eine Schmerztherapie wird über die Zufütterung von Tramal® (Hexal, Deutschland) realisiert.

3.2.5.2. HIPEC mit Mitomycin C (G3)

Die hypertherme intraperitoneale Chemotherapie (HIPEC) wird in offener Kolloseumstechnik durchgeführt. Dazu wird die Bauchdecke mit Backhausklemmen fixiert und die Tiere werden in einem extra entwickelten Lagerungssystem in leichter Antitrendelenburglagerung fixiert.

Zur Spülung werden 2 Drainagen von 6 mm Durchmesser in der Bauchhöhle platziert. Dabei dient eine als Zufluss und die andere als Abfluss. Die Drainagen werden über ein Pumpensystem mit 2 synchron arbeitenden Pumpenköpfen (Masterflex[®], Cole-Parmer Instrument Co., Vernon Hills, Illinois USA) auf einer Achse geführt. Dazwischen sind ein Flüssigkeitsreservoir mit dem Zytostatikum und eine Heizung geschaltet.

Durch diesen Versuchsaufbau kann eine kontinuierliche Spülung der Bauchhöhle mit einer Spülmenge von ca. 80ml/min erzielt und individuell gesteuert werden (Abb. 9). Die Spülung erfolgt mit 15mg/kg KO Mitomycin C (Mitomycin[®], medac, Deutschland) in 250 ml isotoner Kochsalzlösung (Trägerlösung). Dabei werden 7,5mg/kg KO Mitomycin C mit dem Start der Trägerflüssigkeit zugeführt, die 2. Hälfte der Dosis wird nach 30 min zugesetzt. Die Gesamtzeit der Spülung beträgt 60 min.

Zur Temperaturkontrolle werden zwei geeichte Temperatursonden mit 0,5mm Durchmesser platziert. Die erste wird intraabdominal im kleinen Becken fixiert und die zweite im Cavum recti der Tiere.

Die Temperaturen an beiden Messpunkten werden über den Verlauf der Spülung im 5min Intervall dokumentiert. Die intraabdominale Zieltemperatur liegt bei 42-43°C.

Eine Steuerung der Temperatur wird über die Regulierung der Flussgeschwindigkeit sowie der Heizungstemperatur erreicht. Die durchschnittliche Flussgeschwindigkeit beträgt 60-100ml/min.

Nach Abschluss der Chemotherapie werden die Tiere nochmals 5 min mit einer isothermen Kochsalzlösung gespült und die Bauchdecke wie unter 3.2.5.1. verschlossen.

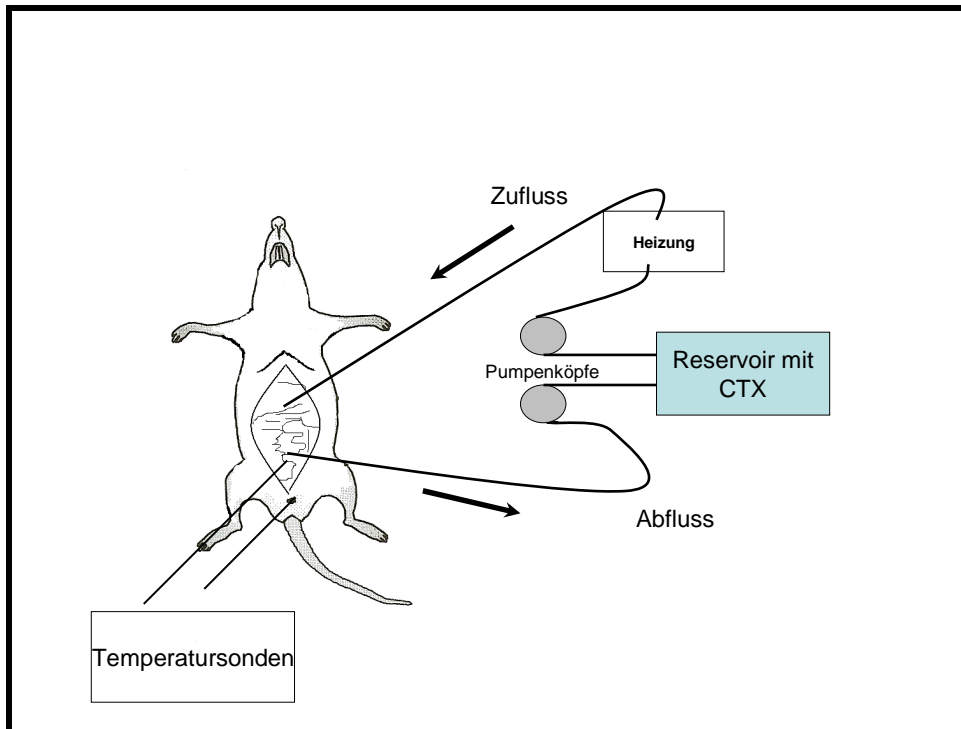


Abb.9: Versuchsaufbau für Therapiegruppen G3- G5

3.2.5.3. Taurolidin Spülung (G4)

Der Versuchsanordnung zur Taurolidinspülung ist ebenfalls identisch zu den Gruppen G3 und G4.

Zur Spülung werden 250 ml 0,5%iges Taurolidin (Taurolin[®], Geistlich Pharma, Schweiz) verwendet.

Die Perfusionszeit beträgt 30min. Die Perfusionstemperatur liegt bei isothermen 37°C. Auf eine rektale Temperaturkontrolle wird verzichtet.

Diese Tiere werden am Ende der Therapie im Unterschied zur G3 und G5 nicht zusätzlich mit NaCl Lösung gespült, sondern das Taurolidin wird nur soweit möglich abgesaugt.

Der Bauchdeckenverschluss erfolgt dann wieder identisch wie oben angegeben.

3.2.5.4. HIPEC mit Gemcitabine (G5)

Der Versuchsaufbau und Therapiedurchführung für die hypertherme intraperitoneale Chemotherapie mit Gemcitabine (Gemzar®, Lilly Pharma, Schweiz) ist identisch zu der unter Punkt 3.2.5.2. beschriebenen HIPEC mit Mitomycin C. Die Dosierung beträgt in diesem Versuchsabschnitt 24mg/kg KG Gemcitabine in 250ml Trägersubstanz (isotone NaCl Lösung).

Dabei wird das Zytostatikum in voller Dosis zu Beginn der Therapie der Trägerlösung zugeführt.

Nach Abschluss der HIPEC erfolgt die Spülung der Bauchhöhle mit isotoner und isothermer NACL Lösung für 5min.

Der Bauchdeckenverschluss ist identisch.

3.2.5.5. Photodynamische Therapie (G6)

Zur Durchführung der photodynamischen Therapie benötigen die Tiere die Applikation eines Photosensitizers. Zu diesem Zweck wird den betreffenden Ratten ca. 6h vor der PDT 100mg/kg KG 5-Aminolävulinsäure über die V. dorsalis penis unter kurzer Ätherinhalationsnarkose appliziert.

Während der Behandlung (ca. 6h nach Applikation des Photosensitizers) wird nach Abschluss des operativen Vorgehens die Bauchdecke mittels Backhausklemmen an einer Halteapparatur fixiert und damit eine maximale Eröffnung der Bauchhöhle realisiert. Die dabei erreichte Form entspricht in idealisierter Weise, der eines Kreises. Der Durchmesser dieser Öffnung wird im Durchschnitt nach drei Messungen in gleichem Abstand bestimmt und als zu bestrahlende Fläche angenommen.

Die Lasertherapie erfolgt mit einem Dioden Laser Visula 630 (Carl Zeiss, Jena, Germany) mit einer Wellenlänge von 630nm und einer maximalem Leistung von 3.0 Watt und einer Dauer von 2x10 min. Durch den Aufsatz einer Mikrolensfaser (FDI-253, Medlight SA, Switzerland) wird eine gleichmäßige Applikation der Leistung im gesamten ausgeleuchteten Feld gewährleistet (Abb. 10).

Zur Vermeidung von Überwärmungseffekten erfolgt die Applikation in zwei Intervallen. Die Räume sind abgedunkelt, die Tiere werden zusätzlich mit

Schutzfolie abgedeckt und die Richtlinien zum Schutz vor Laserstrahlen für die anwesenden Ärzte (Schutzbrillen) werden eingehalten. Die Durchführung der Therapie erfolgt durch einen berechtigten Medizinphysiker.

Nach Abschluss der Behandlung erfolgt der Verschluss der Bauchdecke in zweireihiger Nahttechnik mit resorbierbarem Faden wie oben beschrieben.

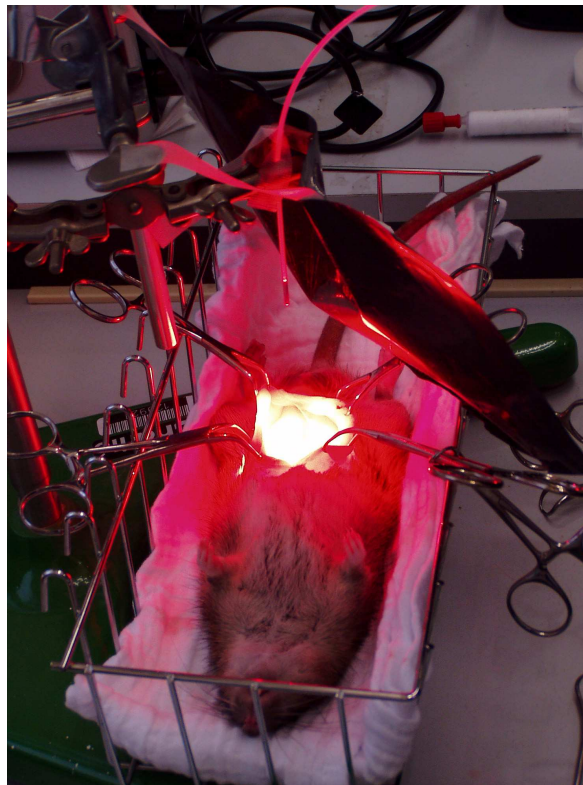


Abb.10: Versuchsaufbau PDT mit Dioden Laser Visula

3.3. Zusätzliche Untersuchungen

3.3.1. Tierverhalten und Gewichtskontrolle

Alle Tiere werden nach der Therapie, die Kontrollgruppe entsprechend der zugeordneten Tage, täglich geblendet begutachtet und ihr Verhalten in entsprechenden Tabellen nach Vorgaben der UKRCCR dokumentiert. Zur besseren statistischen Auswertung wird eine Skala von 1 – 5 entsprechend dem Tierverhalten angelegt. Dabei entspricht 1 dem Normalverhalten und 5 einem schwer beeinträchtigten Verhalten. Bei Auftreten von Veränderungen im Sinne von Punkt 4 bzw. 5 sind die Tiere einzuschläfern. Die Tabelle ist an die Vorgaben der UKCCCR basierend auf den „Guidelines for welfare of animals in experimental neoplasia (Second Edition)“ angelehnt (Tab. 1)(128).

Tab.1: Tierverhalten mit Zuordnung eines Punktesystems in Anlehnung UKCCCR

Tierverhalten	Punktezuordnung
Normalverhalten	1
Futterabneigung, struppiges Fell, Dyspnoe	2
Auffälliges Putzverhalten, Aktivitätszunahme, Schmerzen beim Anfassen, Verletzungen oder Hautveränderungen	3
Hyperaktiv, gesträubtes Fell, Krämpfe, Torkeln, Bauch gespannt hart, Anämie, Blut aus Körperöffnungen	4
Fieber > 39°C, lethargisch, Verfärbung des Bauch oder Hodens	5

Zusätzlich wird eine ebenfalls geblindete Gewichtskontrolle der Tiere zweitägig vorgenommen und in Verlaufstabellen erfasst.

3.3.2. Echokardiographie

Alle Tiere erhalten vor der Therapie und zwischen dem 3. und 5. postoperativen Tag eine Echokardiographie. Die Tiere der Kontrollgruppe werden am 21. und zwischen dem 24. und 28. Tag nach Tumorimplantation untersucht. Die Tiere werden zur Untersuchung mit Xylazine (10mg/kg KG i.p.) und Ketamin (80mg/Kg KG i.p.) narkotisiert. Die Ratten werden im Brustbereich rasiert und in angedeuteter Linksseitenlage gelagert.

Eine kontinuierliche EKG Analyse erfolgt über die Extremitätenableitung während der Untersuchung. Die Untersuchung wird durch erfahrene Kardiologen mit ausgewiesener Expertise der Untersuchungsmethode durchgeführt.

Die Echokardiographie erfolgt mit einem VIVID 7 Dimensions System (General Electric-Vingmed Ultrasound, Norwegen). Als Schallkopf wird ein 10S Transducer (5,5-12 MHz) verwendet. Es erfolgt eine komplette 2-dimensionale-, M-Mode sowie eine pw-Doppler-Untersuchung des transmitralen Flussprofils und eine Farb- und Gewebe-Doppleruntersuchung.

Zur Darstellung der Myokardbeweglichkeit im Doppler - Mode erfolgt eine Vergrößerung mit einer Bildrate von 205-300 frames/s, einem Sektorwinkel von 30° und einer Bildtiefe von 15mm. Der Focus ist auf eine Tiefe von 10mm festgelegt. Die digitalisierten Daten von 5 konsekutiven Herzschlägen werden auf einen Personalcomputer zur weiteren offline Analyse transferiert und unter Verwendung des Echopac-Analyse-Systems ausgewertet.

Es wird die zirkumferentielle und radiale Kontraktilität des Myokards mittels Strain-Analyse (2D-Strain-Analyse: mit Hilfe von Grauwert-Pixel-Analysen mit einer semiautomatischen Auswertesoftware; gibt die regionale Verkürzung und Dehnung von Myokardabschnitten in % der Ausgangslänge an) gemessen. In der Analyse der 5 Herzzyklen werden die Maximal- und Minimalwerte gestrichen und die Mittelwerte von den 3 restlichen Zyklen gemittelt.

Zur weiteren statistischen Auswertung werden zwei Gruppen gebildet. In eine Gruppe („control“) werden die Tiere der Kontrollgruppe G1 und in die zweite Gruppe („therapy“) die operativ behandelten Tiere (G2 und G6) eingebracht, da zwischen diesen Gruppen ein eventueller Unterschied auf Grund der Therapie zu erwarten ist.

3.3.3. Laboruntersuchung

Alle Tiere erhalten am Morgen vor der operativen Therapie sowie am 3. und 7. postoperativen Tag eine Blutentnahme von 2 ml Kapillarblut aus dem inneren Augenwinkel unter Ätherinhalationsnarkose. Die Blutentnahmen der Kontrollgruppe erfolgen zur Vergleichbarkeit am 21., 24. und 28.Tag nach Tumorimplantation in gleicher Weise. Dabei wird ein Blutbild bestimmt.

3.4. Abschluss der Versuchsreihe (Tötung und Obduktion)

Am 21. Tag nach durchgeführter Therapie bzw. 42 Tage nach Tumorimplantation bei der Kontrollgruppe werden die Tiere unter Einhaltung der Tierschutzbestimmungen in einer CO₂ Kammer eingeschläfert.

Alle Tiere werden obduziert und es wird von zwei unabhängigen Untersuchern unter Verwendung von Lupenbrillen geblindet der ePCI bestimmt (Abb.4). Anschließend erfolgt die subtile makroskopische Tumorentfernung und Bestimmung der entnommenen Tumormasse ebenfalls geblindet. Der Tumor wird histologisch aufgearbeitet und gesichert.

3.5. Statistik

Alle Ergebnisse werden in den Tieren zugeordneten Datenblättern erfasst und digitalisiert. Die Daten sind mit Data entry 4.0 in einer Datenbank für SPSS gespeichert.

Die Ergebnisse werden dargestellt als Mittelwerte mit Standardabweichung (SD), Mediane mit Spannweite (Range) und Boxplots mit Median, Interquartilsabstand und Extremwerte. Gruppenunterschiede werden auf Signifikanz getestet mittels t-Test und ANOVA bei normalverteilten bzw. Mann-Whitney-U Test und Kruskal-Wallis Test bei nicht normalverteilten Daten. Zusammenhänge zwischen Variablen werden auf Signifikanz getestet mittels Spearman-Rho Test. P-Werte unter 0,05 werden als signifikant angesehen. Die Auswertung erfolgt mittels SPSS Version 15.0.

4. Ergebnisse

4.1. Tumorresponse

Von 90 mit Tumorzellen implantierten Tieren zeigen im Verlauf der Studie 88 (97,8%) Tiere einen makroskopischen Tumornachweis intraabdominal. Bei zwei Tieren (2,2%) lässt sich makroskopisch an der Implantationsstelle wie auch intraperitoneal kein Tumor nachweisen. Diese Tiere werden laut Studienprotokoll nicht ausgeschlossen, sondern nach Randomisierung behandelt.

4.2. Operatives Tumordebulking

75 Tiere werden am 21. Tag nach Tumorimplantation nach Protokoll laparotomiert, die Tumorknotenzahl und ePCI bestimmt und anschließend ein operatives Tumordebulking mit dem Ziel einer vollständigen Tumorentfernung durchgeführt. Die Tiere werden nach erzielter vollständiger Tumorentfernung (R0) oder (R1) bei makroskopisch verbliebenem Tumorrest zugeordnet. Bei zwei Tieren wird eine zusätzliche Darmresektion mit Anastomose durchgeführt bei perioperativer segmentaler Minderperfusion.

Bei 73 Tieren (97,3%) kann zum Operationszeitpunkt makroskopisch ein Tumorwachstum nachgewiesen werden. Bei 2 Tieren ist kein Tumor sichtbar. Diese Tiere werden aber nach Randomisierung laut Studienprotokoll weiter behandelt.

Die mediane Tumorknotenanzahl liegt bei 40 (range 1 – 114) und der mediane ermittelte ePCI bei 6,4 (2 -12,5). Die mittlere Operationsdauer zum Tumordebulking liegt bei 23,4 min (14 – 31).

Bei 34 Tieren (47,2%) kann eine vollständige makroskopische Tumorentfernung (R0) erzielt werden. Bei 39 Tieren (52,8%) kann nur ein Debulking mit sichtbarem Residualtumor (R2) erreicht werden.

In der R0 Gruppe sind im Median 10 (1-64) Tumorknoten zu finden. Im Vergleich dazu finden sich der R2 Gruppe im Median 65 (21-114) Tumorknoten ($P < 0,001$, Abb.11).

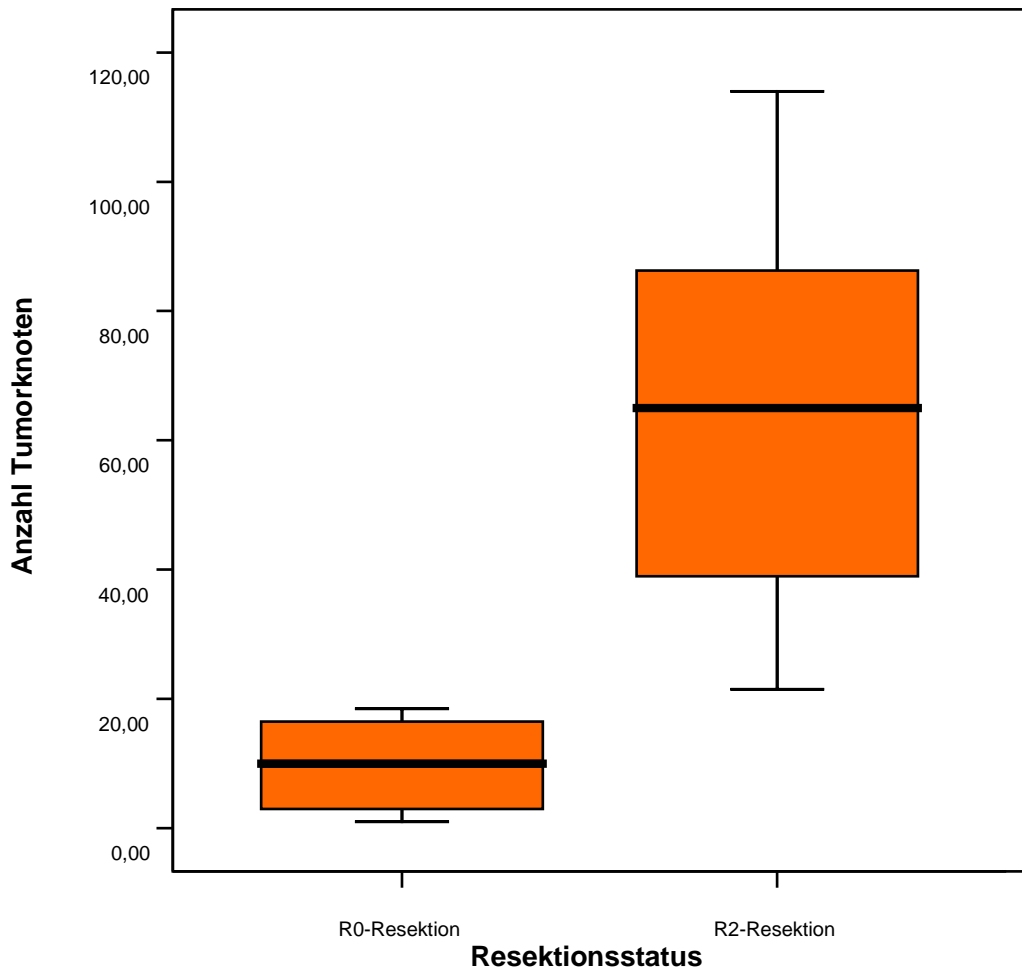


Abb.11: Resektionsstatus in Abhängigkeit der Tumorknotenanzahl

Übereinstimmend damit zeigt sich das Verhalten des ePCI mit einem Median von 4(2-7) in der R0 Gruppe mit entsprechender signifikanter Steigerung auf 8(5-12,5) in der R2 resezierten Gruppe ($P < 0,001$; Abb.12).

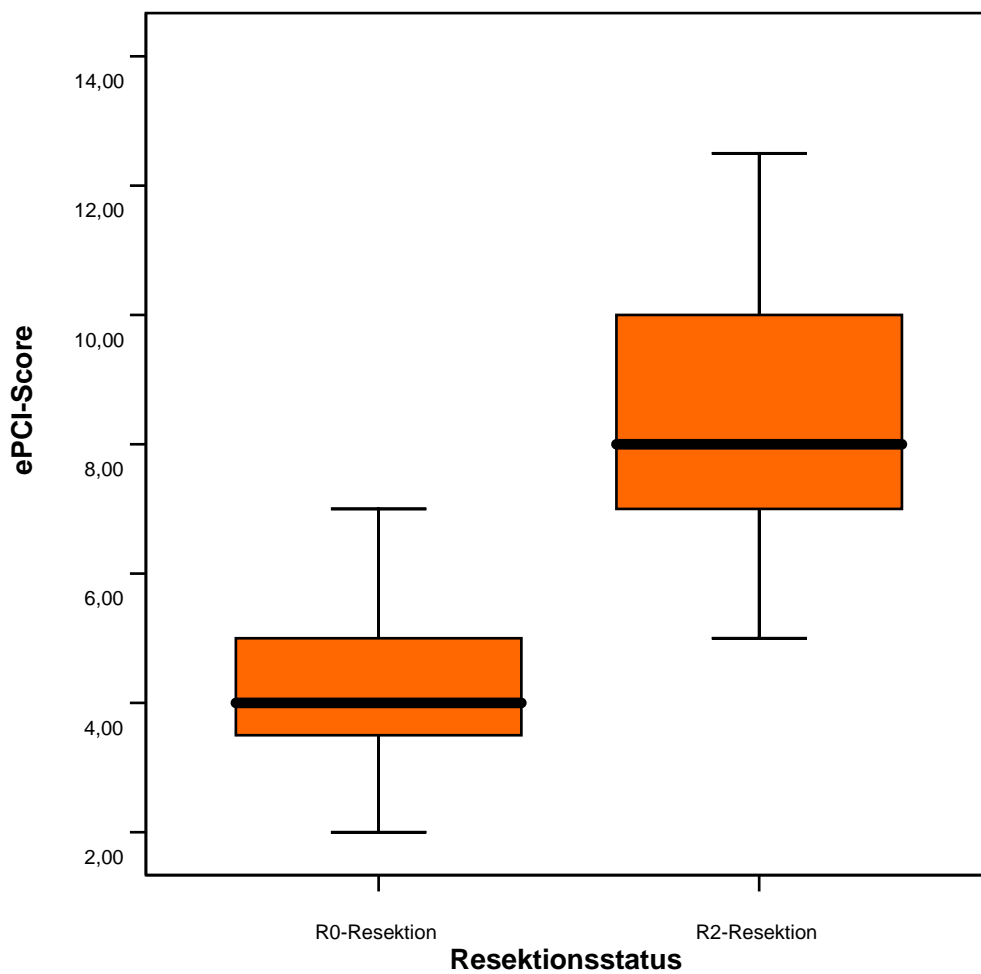


Abb.12: Resektionsstatus in Zusammenhang mit dem ePCI zum Operationszeitpunkt

In der statistischen Analyse zeigt sich die Anzahl der Tumorknoten als wichtigster Faktor hinsichtlich des Erreichens einer R0 Resektion.

Weiterhin kann eine deutliche Korrelation zwischen der Anzahl der Tumorknoten und des ermittelten ePCI nachgewiesen werden (Spearman-Rho 0,914, P=0,01; Abb.13).

Zur weiteren Analyse erfolgt bei dieser Korrelation die Auswertung über den ePCI.

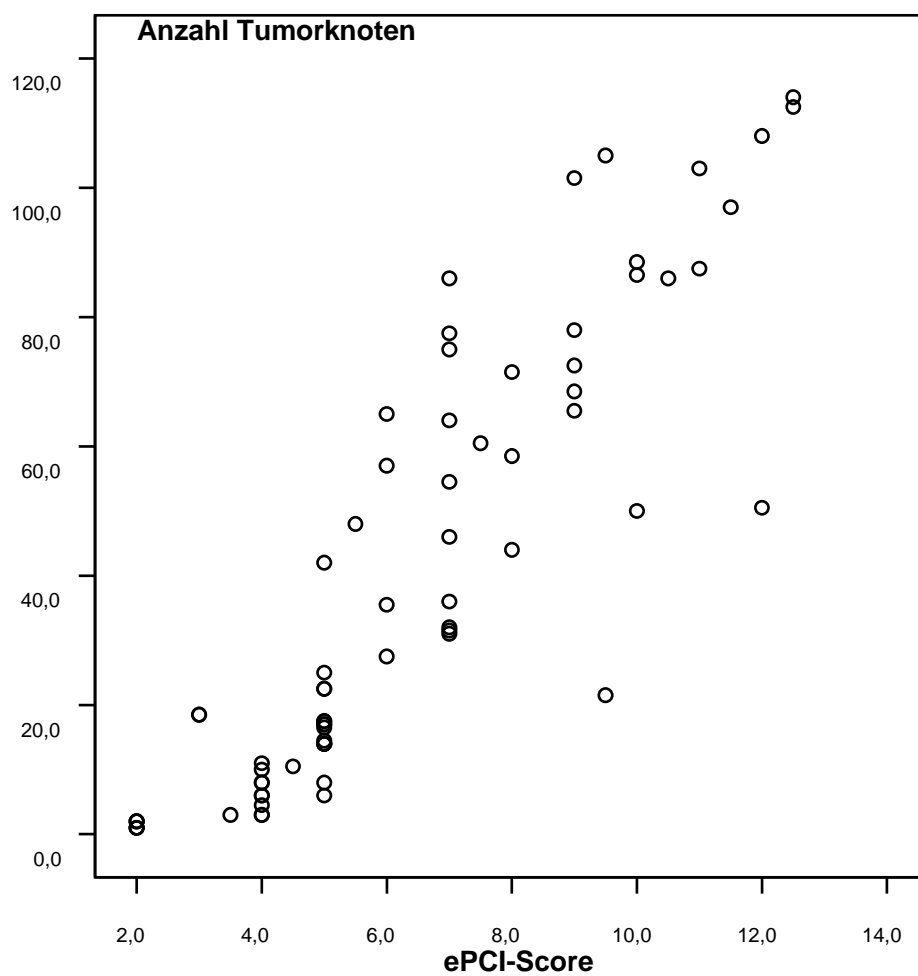


Abb.13: Korrelation zwischen Anzahl der Tumorknoten und ePCI

4.3. Perioperative Mortalität

Insgesamt 7(8%) Tiere versterben im Versuchsverlauf. Ein Tier verstirbt während einer Narkose nach der Therapie. Die anderen Tiere versterben im Zusammenhang mit der Operation.

Ein Tier verstirbt bei einer Blutung im Milzhilus am Operationstag. Zwei Tiere versterben durch einen postoperativen Ileus am 2. bzw. 3. Tag nach der Operation. Die restlichen zwei Tiere versterben am 1. bzw. 2. postoperativen Tag bei einer Darmischämie bzw. ein Tier bei Anastomoseninsuffizienz nach Darmanastomose. Alle Tiere werden zur Sicherung der Todesursache obduziert und aus der weiteren Analyse ausgeschlossen.

Ein Einfluss der adjuvanten Therapieregime auf die Mortalität zeigt sich bei der geringen Anzahl und den unterschiedlichen Ursachen nicht.

Tab.2: Todesursachen und Randomisierungsgruppen

Gruppen	Anzahl verstorbene Tiere N	Todesursache
G1	0	
G2	1	Anastomoseninsuffizienz
G3	2	Milzblutung Darmischämie
G4	3	Herzstillstand bei Kurznarkose Ileus Darmischämie
G5	1	Ileus
G6	0	

4.4. Therapieergebnisse

Insgesamt können 83 Tiere (82%) in die Auswertung einbezogen werden. Die medianen analysierten Werte der Tumormasse und des ePCI sind überblicksmäßig in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tab.3: Tumormasse und ePCI (median und range) nach Randomisierungsgruppen

	G1	G2	G3	G4	G5	G6
N	15	14	13	12	14	15
Tumor- masse (g)	6.4 (0.6 – 23.5)	1.4 (0 – 21.5)	0.4 (0 – 10.8)	1.3 (0 – 15.4)	1.5 (0 – 13.3)	0.3 (0 – 20)
ePCI	18 (8 -20)	9 (0 – 20)	4 (0 – 14)	7 (0 – 20)	8 (0 – 20)	6 (0 – 20)

4.4.1. Tumormasse

Die mittlere Tumormasse zum Zeitpunkt der Obduktion beträgt 1,88 g mit einer deutlichen Schwankungsbreite von 0-23,5g. Dabei weist die Kontrollgruppe die deutlich größte mediane Tumormasse mit 6,4g (0.6-23.5) auf.

Alle Therapiegruppen (G2-G6) zeigen eine signifikant geringere nachweisbare Tumormasse als die Kontrollgruppe ($P=0,01$ – $P=0,05$). Ein signifikanter Unterschied innerhalb der einzelnen Therapiegruppen sowie im Vergleich zwischen der ausschließlich operierten Gruppe (G2) im Vergleich zu den zusätzlich behandelten Gruppen (G3-G6) lässt sich nicht finden.

Einzig die Gruppe G3 (HIPEC MMC) weist tendenziell eine geringere Tumorlast mit auch geringerer Range auf, ohne statistische Signifikanz nachweisen zu können ($P=0,09$) (Abb. 14). In der statistischen Analyse des Resektionstatus zeigt sich ein hoch signifikanter Einfluss einer erzielten R0 Resektion hinsichtlich der Tumormasse innerhalb der einzelnen Therapiegruppen (G2-G6).

Zwischen den Therapiegruppen bestehen aber auch unter Berücksichtigung des Resektionsstatus keine signifikanten Unterschiede bei statistisch eingeschränkter Aussage auf Grund der geringen Gruppengrößen (P-Wert OP-Gruppe = 0.179, P-Wert Zytored <0.001, P-Wert Interaktion OP-Gruppe-Zytored = 0.354) (Tab. 4).

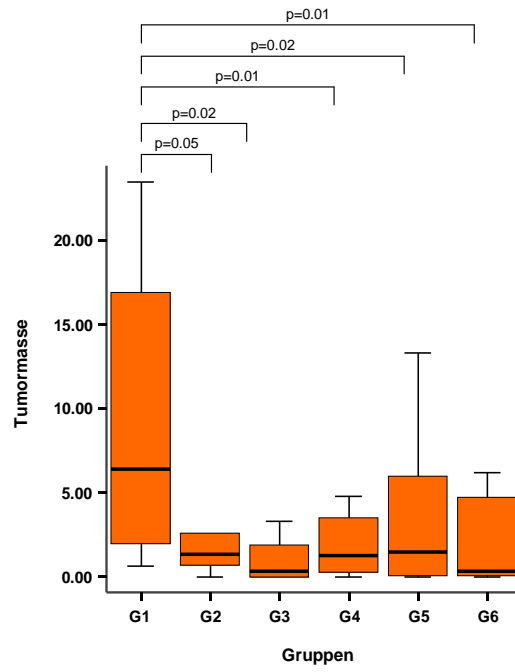


Abb.14: Tumormasse 21 Tage nach Behandlung; Mann Whitney-U Test zur Untersuchung der Unterschiede in den Gruppen

Tab.4: Tumormasse zum Untersuchungsende: Mittelwert und Standardabweichung nach erzielter Zytoreduktion während der Therapie

Gruppen	Zytoreduktion	Mittelwert	Standard- abweichung	N
G2	R0	1,0288	0,88924	9
	R2	9,6617	9,059723	6
	Gesamt	4,7286	7,45030	14
G3	R0	0,0650	0,14053	6
	R2	2,9986	3,62562	7
	Gesamt	1,6446	2,98291	13
G4	R0	0,1400	0,15769	4
	R2	4,7700	5,39283	8
	Gesamt	3,2267	4,86937	12
G5	R0	0,1100	0,18044	6
	R2	6,2438	4,62659	8
	Gesamt	3,8660	4,63260	14
G6	R0	0,1989	0,31050	9
	R2	9,3667	7,59649	6
	Gesamt	3,8660	6,50208	15
Gesamt	R0	0,3524	0,60060	33
	R2	6,3791	6,41784	35
	Gesamt	3,4544	5,50290	68

4.4.2. experimental Peritoneal Carcinosis Index (ePCI)

Der mediane ePCI beträgt 9 (range 0-20). In der Kontrollgruppe G1 findet sich ein signifikant höherer ePCI Wert als in allen Therapiegruppen (G2-G6). Es bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Therapiegruppen G2 und G4-G6. Die Gruppe G3 (HIPEC MMC) zeigt den geringsten medianen ePCI Wert mit 4 (range 0-14). Dieses Ergebnis ist signifikant niedriger im Vergleich zu den anderen Therapiegruppen (P=0,02; Abb. 15).

In der statistischen Analyse des Resektionsstatus (Zytoreduktion) zeigt sich ein signifikanter Einfluss einer erzielten R0 Resektion hinsichtlich des ePCI innerhalb der einzelnen Therapiegruppen (G2-G6).

Zwischen den Therapiegruppen bestehen aber auch unter Berücksichtigung der Zytoreduktion keine signifikanten Unterschiede bei statistisch eingeschränkter Aussage auf Grund der geringen Gruppengrößen (P-Wert OP-Gruppe = 0.002, P-Wert Zytored <0.001, P-Wert Interaktion OP-Gruppe-Zytored = 0.151) (Tab. 5).

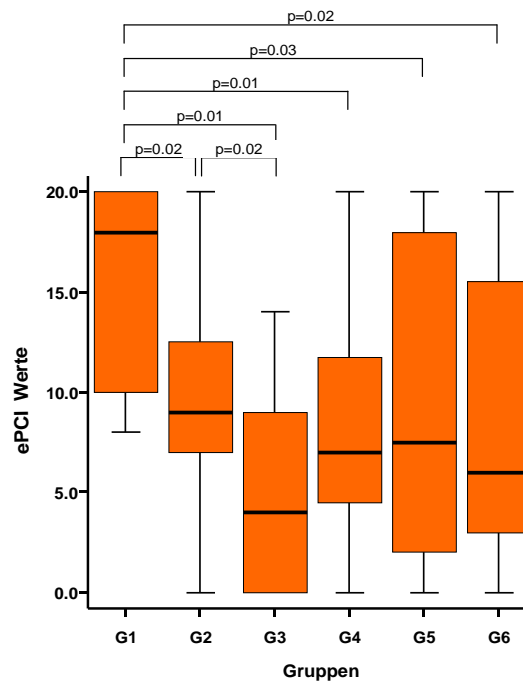


Abb.15: Boxplots ePCI zum Untersuchungsende

Tab.5: ePCI Werte: Mittelwert und Standardabweichung nach erzielter Zytoreduktion während der Therapie

Gruppen	Zytoreduktion	Mittelwert	Standard- abweichung	N
G2	R0	7,375	3,7867	9
	R2	14,000	6,2929	6
	Gesamt	19,214	5,8760	14
G3	R0	0,917	1,6253	6
	R2	8,000	4,2426	7
	Gesamt	4,731	4,8589	13
G4	R0	2,750	2,2174	4
	R2	11,250	5,4903	8
	Gesamt	8,417	6,1675	12
G5	R0	1,833	1,9408	6
	R2	14,063	5,8091	8
	Gesamt	8,821	6,6852	14
G6	R0	3,667	3,1225	9
	R2	16,833	2,9269	6
	Gesamt	8,933	7,2945	15
Gesamt	R0	3,621	3,5532	33
	R2	12,671	5,6749	35
	Gesamt	8,279	6,5679	68

4.5. Toxizität

4.5.1. Postoperatives Tierverhalten

Das Verhalten von allen Tieren, die bis zum Zeitpunkt des Untersuchungsabschlusses überlebten, wird analysiert. In den Verläufen sind die Tiere ausgeschlossen, die im perioperativen Verlauf verstarben (N=7). Zur besseren statistischen Analyse werden Stichproben, die den Verlauf dokumentieren, in Tabelle 6 dargestellt. Dabei zeigen alle Ausgangswerte (Baseline), die dem ersten Tag nach Therapie entsprechen, schon geringe Unterschiede. Hier sind vor allem die Therapiegruppen G3-G5 betroffen. Die Unterschiede in den Ausgangswerten nach Therapie sind aber über die Gruppen nicht signifikant (P=0,148 in ANOVA). Im Verlauf des Beobachtungszeitraumes nach der Therapie zeigt sich vor allem in der Gruppe G1 ein Anstieg der Werte im Vergleich zur Baseline im Median von 1,1±1,0, während in den anderen Gruppen der Anstieg nur zwischen 0,2 – 0,5 im Mittelwert beträgt. Allerdings ist diese Verhaltensänderung in der Variatanalyse nicht signifikant (P=0,082).

Tab.6: Zusammenfassung des Tierverhaltens in Anlehnung an UKCCCR im postoperativen Verlauf: Mittelwert und SD

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	P Value
Baseline							
Mittelwert (SD)	1,0±0	1,0±0	1,2±0,6	1,4±0,7	1,3±0,7	1,0±0	0,178*
Median	10	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,148 [#]
Tag 7							
Mittelwert (SD)	1,1±0,5	1,1±0,5	1,0±0	1,0±0	1,0±0	1,0±0	0,546*
Median	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,563 [#]
Tag 14							
Mittelwert (SD)	1,6±0,9	1,1±0,3	1,0±0	1,0±0	1,1±0,4	1,0±0	0,002*
Median	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,007 [#]
Tag 21							
Mittelwert (SD)	2,1±1,0	1,4±1,0	1,3±0,8	1,3±0,6	1,6±0,9	1,5±0,8	0,145*
Median	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,147 [#]
Differenz							
Ende - Baseline							
Mittelwert (SD)	1,1±1,0	0,4±0,9	0,2±0,6	0,2±0,7	0,5±0,9	0,5±0,8	0,082*
Median	1,5	0	0	0	0	0	0,101 [#]

*ANOVA

4.5.3. Gewichtsverhalten

Alle Tiere nahmen im Verlauf der Untersuchung an Gewicht zu. Die Gewichtsverläufe sind in Abbildung 16 grafisch dargestellt. In den Ausgangswerten (Baseline) gibt es zum Beginn der Untersuchung signifikante Unterschiede zwischen den Randomisierungsgruppen ($P=0,001$). Die mediane Gewichtszunahme vom Zeitpunkt der Therapie bis zur Tötung liegt in den Therapiegruppen G2, G3, G4 und G5 zwischen 23 - 34g. Die Kontrollgruppe weist für diesen Zeitraum eine mediane Zunahme von 29g auf. Die Gruppe G5 verzeichnet nur eine signifikant verringerte mediane Gewichtszunahme von 8g (Tab. 7). Allerdings zeigt sich in der Variatanalyse (Baseline adjustierten ANOVA) kein statistisch signifikant nachweisbarer Unterschied in den Medianen zwischen den Randomisierungsgruppen ($P=0,704$).

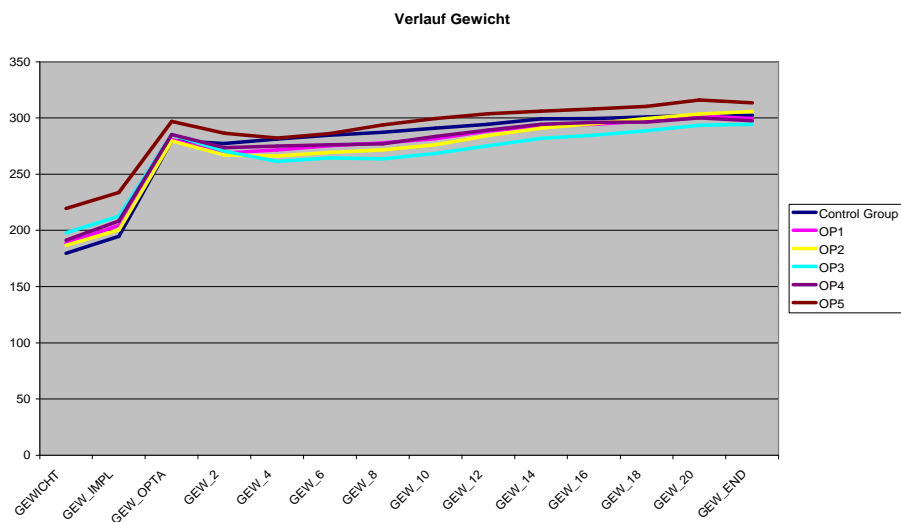


Abb.16: Gewichtsverlauf in Abhängigkeit der Randomisierungsgruppen

Tab.7: Gewichtsverläufe in den Randomisierungsgruppen

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	P Value
Einstellung							
Mittelwert (SD)	180±24	189±27	187±25	198±20	191±26	220±16	<0.001*
Median	175	188	183	191	193	217	0.001
Implantationstag							
Mittelwert (SD)	195±25	204±27	200±24	213±18	208±27	234±17	<0.001*
Median	194	206	196	207	210	232	0.001
OP-Tag							
Mittelwert (SD)	280±22	281±26	280±21	285±16	285±24	297±23	0.266*
Median	278	288	277	282	289	302	0.214
Obduktionstag							
Mittelwert (SD)	302±41	300±40	306±26	294±36	298±32	313±40	0.790*
Median	315	310	310	302	310	316	0.704
Gewicht Differenz Obduktionstag – OP-Tag							
Mittelwert (SD)	23±34	19±20	27±18	12±29	12±17	16±26	0.455**
Median	29	23	34	23	8	32	0.284

*ANOVA, **ANOVA adjustiert für Gewicht OP Tag

4.5.3. Echokardiografie

Die Untersuchung konnte bei allen Tieren prä- und postoperativ durchgeführt werden. Alle Ratten überlebten die Untersuchung ohne hämodynamische oder respiratorische Insuffizienz sowie ohne Zeichen einer Arrhythmie. Die mediane Untersuchungszeit pro Tier lag bei ca. 15min.

4.5.3.1. Effekte in den Behandlungsgruppen

Die Herzfrequenz der Tiere der Kontrollgruppe (G1) war im Verlauf signifikant (235 ± 34 vs $274 \pm 47 \text{ min}^{-1}$; $P=0,006$) im Vergleich zu den Therapiegruppen (G2-G6) nach der Operation erhöht.

Die hämodynamischen Effekte in der Kontroll- sowie den Therapiegruppen sind in den Tabellen 8 und 9 zusammengefasst. Es zeigt sich eine Steigerung der LVEDD und LVESD in allen Gruppen in der Kontrolluntersuchung ($P=0,0037$).

Die anderen linksventrikulären Dimensionen wie FS (Fractioning shortening) und EF (Ejektionsfraktion) sind nicht signifikant im Verlauf beeinflusst. Die diastolischen mitralen Füllungsparameter sowie die myokardiale Beschleunigung sind ebenfalls nicht durch die unterschiedlichen Therapien signifikant verändert (Abb. 17,18).

Dies zeigt sich in gleicher Weise für die Werte der rechtsventrikulären Dimensionen und Funktionen (TAPSE), die ebenfalls innerhalb der Therapiegruppen sowie im Verlauf keine signifikanten Veränderungen aufweisen (Abb. 19,20).

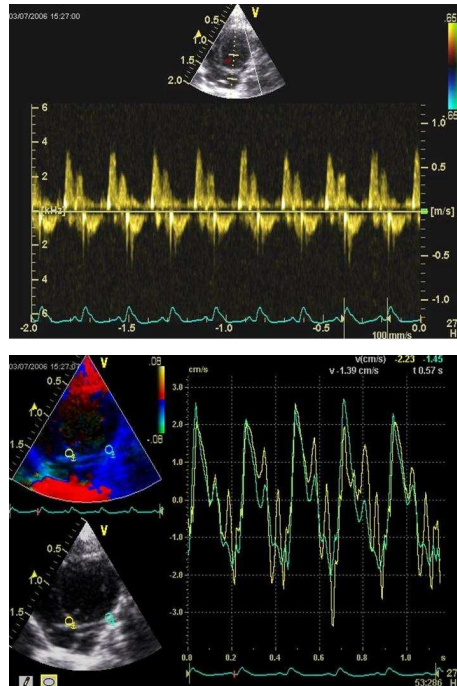


Abb.17,18: Pw Doppler des transmitralen Flow von apical und Gewebe Doppler mit Kalkulation der systolischen und diastolischen Beschleunigung des Basalsegments

Tab.8: Echokardiographische Basisdaten der Studientiere in den Randomisierungsgruppen

	G 1	G 2	G 3	G 4	G 5	G 6	G2-6
	„control“						„therapy“
	vor / nach Therapie						
BMI g/m² KO							
Median	282	276	269	274	275	288	275
Range	258-318	227-287	235-306	235-312	237-291	247-312	227-312
Herzfrequenz							
m ⁻¹							
Median	265/274*	260/253	260/253	259/268	260/265	277/260	263/261
Range	223-249/ 215-287	244-288/ 221-296	235-289/ 185-289	231-278/ 221-311	245-289 234-300	256-288/ 234-298	231-289/ 185-311
LVEDD							
mm							
Median	6,9/7,2*	6,7/7,1*	6,6/6,8	6,8/7,1	7,1/7,3	7,6/7,8	7/7,2*
Range	6,3-7,8/ 6,5-7,9	6,0-7,8/ 6,4-7,6	5,0-7,4/ 5,5-7,3	5,4-7,6/ 6,5-7,9	6,8-7,6/ 6,9-7,8	7,3-8,1/ 7,1-8,7	5,0-8,1/ 5,5-8,7

LVESD mm							
Median	2,7/3,0	2,6/3,0	2,5/2,7	2,5/2,7	2,6/2,8	2,7/3,3	2,8/3,1*
Range	2,2-4,0/ 2,3-4,1	2,3-4,1/ 2,4-4,2	2,2-4,0/ 2,3-4,1	2,3-4,0/ 2,3-4,1	2,3-4,1/ 2,2-4,1	2,5-4,1/ 2,6-4,0	2,1-4,1/ 2,1-4,0
LVED Septumdicke mm							
Median	1,3/1,3	1,3/1,2	1,6/1,5	1,4/1,4	1,2/1,2	1,2/1,2	1,3/1,3
Range	1,2-1,5/ 1,2-1,4	1,1-1,8/ 1,1-1,4	1,3-2,0/ 1,2-1,7	1,0-1,9/ 1,1-1,4	1,1-1,3/ 1,1-1,2	1,1-1,3/ 1,1-1,4	1-2,0/ 1,1-2,0
LVED Hinterwand- dicke mm							
Median	1,22/1,3	1,48/1,28	1,6/1,6	1,4/1,5	1,2/1,2	1,25/1,3	1,4/1,4
Range	1,1-1,3/ 1,1-1,4	1,2-2,2/ 1,1-1,4	1,2-2,3/ 1,2-2,6	1,1-1,9/ 1,2-2,3	1,1-1,4/ 1,1-1,3	1,1-1,4/ 1,1/1,4	1,1-2,3/ 1,1-2,6
Fractional shortening %							
Median	35,0/36,5	36,2/35,0	40,0/43,2	39/38	34/35	33,0/33,8	36,6/37,1
Range	34-36/ 35-38	34-42/ 32-39	34-47/ 37-53	32-52 31-45	31-37/ 32-38	32-34/ 31-37	31-52/ 31-53
Linksventriku- läre EF %							
Median	71/72	71/72	75/78	74/74	71/72	74/74	73/74
Range	68-73/ 66-75	67-79 66-75	67-83/ 70-88	62-87/ 67-81	68-73/ 69-74	71-78/ 71-76	62-8/ 66-88
TAPSE mm							
Median	1,85/1,82	1,94/1,86	1,88/1,95	1,91/1,92	1,9/1,9	1,88/1,95	1,9/1,9
Range	1,7-2,1/ 1,7-1,9	1,8-2,2/ 1,7-2,0	1,7-2,1/ 1,8-2,0	1,8-2,0/ 1,7-2,1	1,7-2,0/ 1,8-2,0	1,7-2,1/ 1,8-2,0	1,7-2,2/ 1,7-2,1

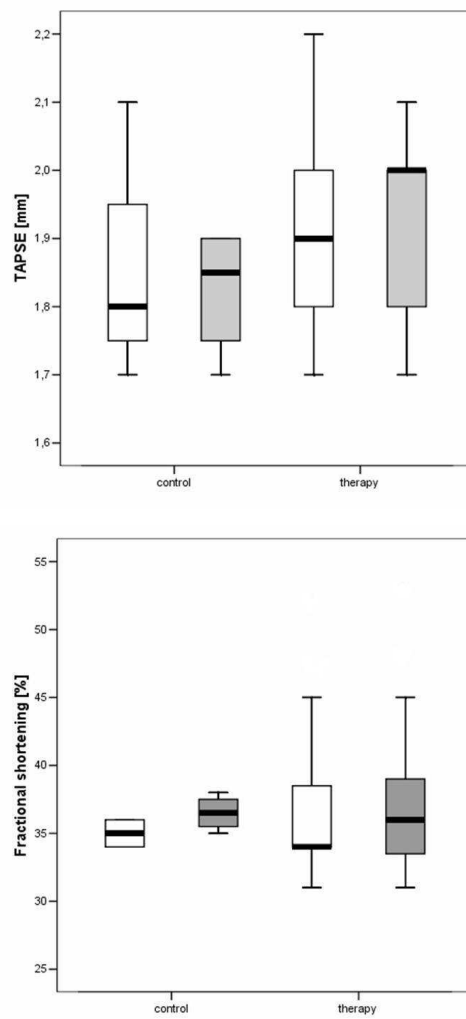


Abb.19 und 20: Boxplots Analyse der TAPSE und FS in der „control“ Gruppe (G1) und den „therapy“ Gruppen (G2-G6) vor (weiß) und nach (grau) Therapie

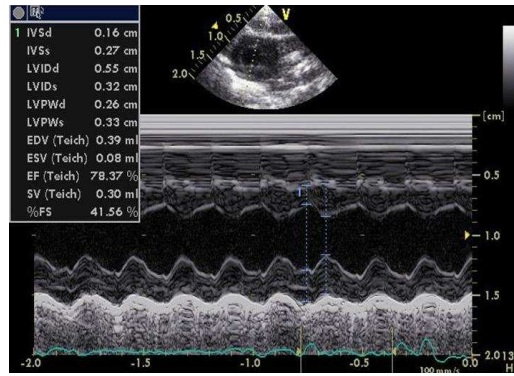


Abb.21: M-Mode Darstellung über die „kurze Achse“ als Beispiel zur Bestimmung der linksventrikulären Dimensionen

Tab.9: Diastolische Funktionsparameter

	G 1	G 2	G 3	G 4	G 5	G 6	G2-6
	control						therapy
	vor/ nach Therapie						
E.Welle							
Cm/s							
Median	73/76	71,8/71,6	78/70,3	75,6/79,0	75,8/72,3	78/78,7	76/75
Range	69-78/ 72-78	66-76/ 68-78	69-98/ 57-87	68-87/ 67-101	69-88/ 66-89	68-88/ 69-88	66-98/ 57-101
A Welle							
Cm/s							
Median	42/42	43,6/44,4	45/44	45,2/47,3	46/45	47,3-45,7	45/52
Range	34-45/ 35-50	35-50/ 35-51	40-50/ 43-45	41-57/ 31-48	41-51/ 41-49	40-56/ 34-56	35-57/ 31-64
E/A ratio							
Median	1,78/1,83	1,67/1,63	1,77/1,59	1,68/1,81	1,66/1,6	1,68/1,76	1,69/1,69
Range	1,5-2,29/ 1,52-2,23	1,38-2,0/ 1,38-1,94	1,4-2,45/ 1,27-1,98	1,44-2,0/ 1,34-1,98	1,45-2,1/ 1,35-1,98	1,29-2,2/ 1,25-2,24	1,29-2,45/ 1,23-2,3

Mitral- einström Dezelerations Zeit ms							
Median	50,2/50,0	47,0/48,2	47,7/47,6	49,8/49,3	50,8/49,3	46,8/46,3	48,6/48,2
Range	46-57/ 45-56	44-50/ 43-55	43-50/ 45-50	46-56/ 45-54	45-55/ 47-53	43-52/ 44-50	43-56/ 43-55
Gewebe - Doppler E´ ms							
Median	2,87/2,95	2,74/2,8	2,8/2,8	2,75/2,91	2,78/2,75	2,65/3,02	2,8/2,9
Range	2,7-3,9/ 2,8-3,0	2,4-3,0/ 2,4-3,4	2,6-3,1/ 2,3-3,4	2,32-3,1 2,7-3,2	2,4-3,0/ 2,4-3,0	2,2-3,4/ 2,8-3,3	2,2-3,4 2,3-3,4
Gewebe- Doppler A´ ms							
Median	2,1/1,73	2,12/2,22	2,16/1,88	1,89/1,96	2,23/2,23	2,3/2,3	2,1/2,1
Range	1,7-2,4/ 1,5-2,0	1,6-2,5/ 1,8-2,6	1,6-2,9/ 1,5-2,3	1,49-2,4/ 1,44-2,4	2,1-2,4/ 2,0-2,4	2,2-2,4/ 2,0-2,5	1,49-2,9/ 1,44-2,6
E zu E´ratio							
Median	25,4/25,8	26,3/25,9	27,7/25,0	27,6/27,1	27,3/26,5	30,1/26,2	27,8/26,2
Range	24,-26,9/ 24,0-27,1	24,4-30,/ 20,6-30,4	26,3-31,/ 21,1-30,4	23,-34,2/ 22,9-35,4	23-30,8/ 22,3-34,2	21,-37,7/ 20,9-29,3	21,2-37,7/ 20,6-35,4

Tab.10: Radiale und zirkumferentielle 2D Strain Werte

	G 1	G 2	G 3	G 4	G 5	G 6	G2-6
	„control“						„therapy“
	vor / nach Therapie						
Radialer Strain							
Anterior strain							
%							
Median	24,2/22,7	20,6/21,4	22,1/22,8	21,0/23,5	21,8/22,1	22,6/21,6	21,6/22,4
Range	21-28/ 21-25	18-24/ 19-24	12,6-38/ 18-35	18-24/ 20-36	19-23/ 20-24	19-27/ 18-28	12,6-38/ 18,0-36,0
Inferior Strain							
%							
Median	21,2/18,5	20,4/19,8	21,6/22,5	18,4/18,1	19,8/18,5	20,5/18,8	20,0/19,4
Range	18-23/ 16-22	17-22/ 15-22	17-35/ 16-37	11-24/ 11-22	12-23/ 16-22	17-29/ 17-21	11-35/ 11-37
zirkumferentieller Strain							
Anterior Strain							
%							
Median	-22,0/- 22,0	-22,0/- 21,6	-22,3/- 23,0	-22,4/- 22,8	-21,5/- 23,8	-22,0/- 21,8	-22,1/- 22,6
Range	19-26/ 20-24	18-24/ 18-26	18-25/ 19-27	17-26,6/ 19-25	19-25/ 21-26	21-23/ 18-25	17-26,6/ 18-27
Inferior Strain							
%							
Median	-18,0/- 17,2	-17,8/- 16,2	-17,6/- 16,8	-19,6/- 15,7	-18,3/- 16,3	-16,8/- 16,3	-18,1/- 16,2*
Range	16-21/ 14-21	16-19/ 12-22	15-21/ 13-21	14-25/ 9-22	16-21/ 14-18	16-18/ 15-18	14-25/ 9-22

4.5.3.2. 2D Strain Echokardiografie

Die Veränderungen der radialen und zirkumferentiellen Kontraktilität sind in Tabelle 10 zusammenfassend dargestellt. Es zeigen sich heterogene Werte für die zirkumferentielle und radiale Deformation (=Strain, positiver Strain = Dehnung; negativer Strain = Verkürzung) für die einzelnen Wandabschnitte inferior und septal als Ausdruck einer bekannten regional unterschiedlich ausgeprägten Kontraktion auch bei gesunden Tieren.

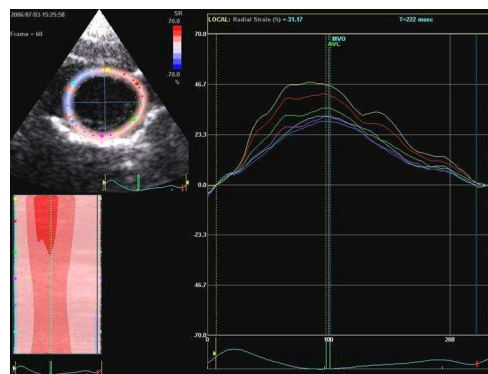


Abb.22: 2D Strain Messung der radialen Deformation des anterior inferioren Wandabschnitts als Ausgangswert (Baseline) vor Therapie

Die Strain-Profile zeigen bei allen Tieren nach Therapie (G2-G6) eine sogenannte postsystolische Kontraktion bei den zirkumferentiellen Strain-Werten im inferioren Wandsegment. Diese Veränderung lässt sich in der Kontrollgruppe (G1) nicht nachweisen (Abb23A,B).

Die radialen Parameter waren nicht signifikant beeinflusst durch die Art der Therapie (Tab.10).

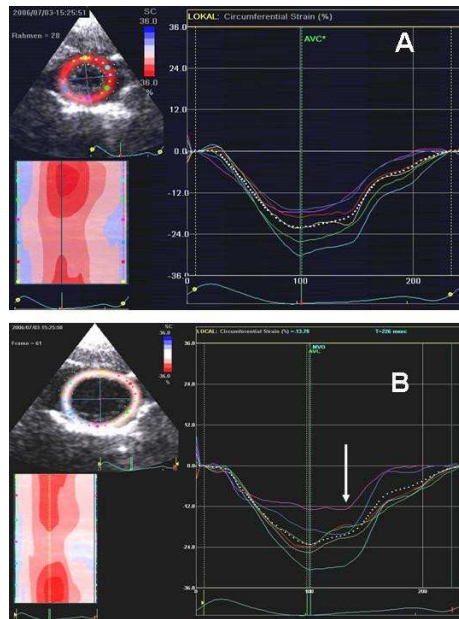


Abb.23(A,B): 2D Strain Messung der zirkumferentiellen Deformation der anterioren und inferioren Wand als Baseline(A) und nach Therapie (B) mit Reduktion des maximalen Strain in der inferioren Wand

Der zirkumferentielle Strain der inferioren Wand war im postoperativen Verlauf in der Behandlungsgruppe G4 signifikant reduziert ($P=0.02$). Im Vergleich zur Kontrollgruppe (G1) waren die zirkumferentiellen Strain-Werte der Therapiegruppe (G2-6 = „therapy“) im postoperativen Verlauf signifikant verringert (G1: $-18,0 \pm 2,1\%$ vor und $-17,25 \pm 3,3\%$ nach vs G2-6: $-18,1 \pm 2,5\%$ bevor und $-16,2 \pm 2,9\%$ nach Therapie; $P=0.001$). Das zirkumferentielle Strain Profil zwischen den einzelnen Therapiegruppen war nicht signifikant verschieden (Tab.10, Abb.24 und 25).

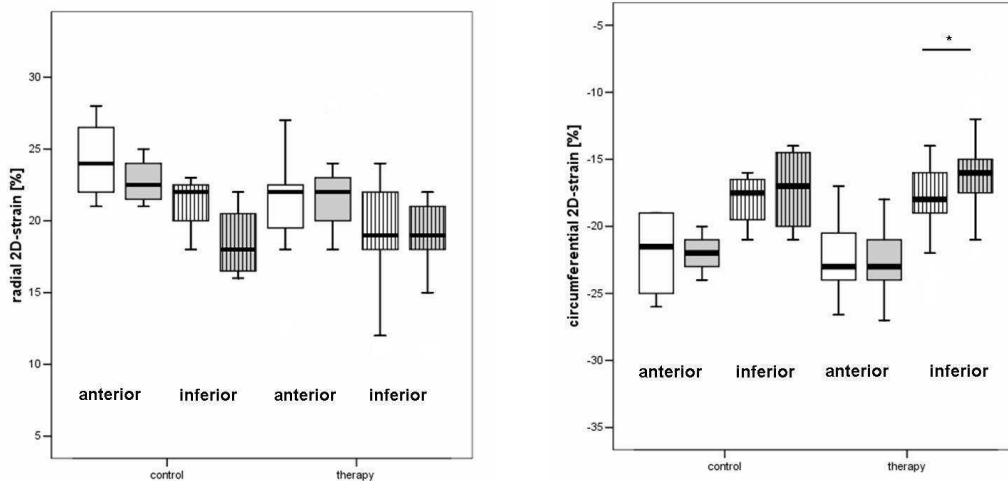


Abb.24,25: Boxplots Analyse der radialen bzw. zirkumferentiellen 2D Strain Werte in der „control“ G1 und „therapy“ G2-G6 Gruppe, die weißen boxes vor, grau nach Therapie

4.5.4. Laboruntersuchung

Bei allen Tieren konnten die geplanten Blutentnahmen nach Protokoll durchgeführt werden. Ein Tier aus der Gruppe G4 verstarb bei der ersten Blutentnahme postoperativ. Acht Laborproben konnten auf Grund technischer Defekte nicht ausgewertet werden. Hämoglobin Wert und Leukozytenzahl werden analysiert.

4.5.4.1. Hämoglobin (Hb)

Der mediane Ausgangswert des Hb (Baseline) liegt bei 14,8 g/dl über allen Gruppen. Im postoperativen Verlauf zeigt sich bei allen Therapiegruppen (G2-G6) ein Abfall des Hb Wertes am 3. postoperativen Tag (Tab.11).

Die Unterschiede sind nicht signifikant zwischen den Gruppen. Der größte Abfall zum 3. postoperativen Tag ist in der Gruppe G5 zu verzeichnen. Im weiteren Verlauf kommt es in den Gruppen G2, G3 und G5 wieder zum Ansteigen des Hb Wertes, während in den Gruppen G4 und G6 sich ein weiterer leichter Rückgang der medianen Werte zeigt.

Die Veränderungen sind aber statistisch nicht signifikant. In der Beobachtung der Differenz zum Ausgangswert zeigt sich in der Gruppe G4 eine signifikante Verringerung des Hb Wertes im postoperativen Verlauf im Vergleich zum Ausgangswert präoperativ (Abb. 26).

Tab.11: Hb Werte im perioperativen Verlauf

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	P Value
Werte in g/dl							
Prä-OP							
Mittelwert (SD)	14,7±0,3	15,0±0,5	14,9±0,3	15,0±0,5	14,9±0,3	14,8±0,7	0,609*
Median	14,9	15,0	14,8	14,8	14,9	14,4	
Tag 3 Post OP							
Mittelwert (SD)	14,6±0,6	13,9±0,6	14,0±0,5	13,5±1,1	12,5±1,5	13,9±0,5	<0,001*
Median	14,7	14,2	14,0	14,0	13,3	14,1	
Tag 7 Post OP							
Mittelwert (SD)	14,9±0,3	14,4±0,4	13,8±1,8	13,3±1,0	13,5±0,9	13,3±1,9	0,023*
Median	14,8	14,6	14,2	13,4	13,5	13,7	
Differenz							
Tag 7 – Prä-OP							
Mittelwert (SD)	0,1±0,3	-0,5±0,4	-1,0±1,9	-1,8±1,0	-1,5±0,9	-1,4±1,7	0,010*
Median	0,1	-0,6	-0,5	-1,6	-1,3	-1,0	

*ANOVA, ** ANOVA adjustiert für Baseline

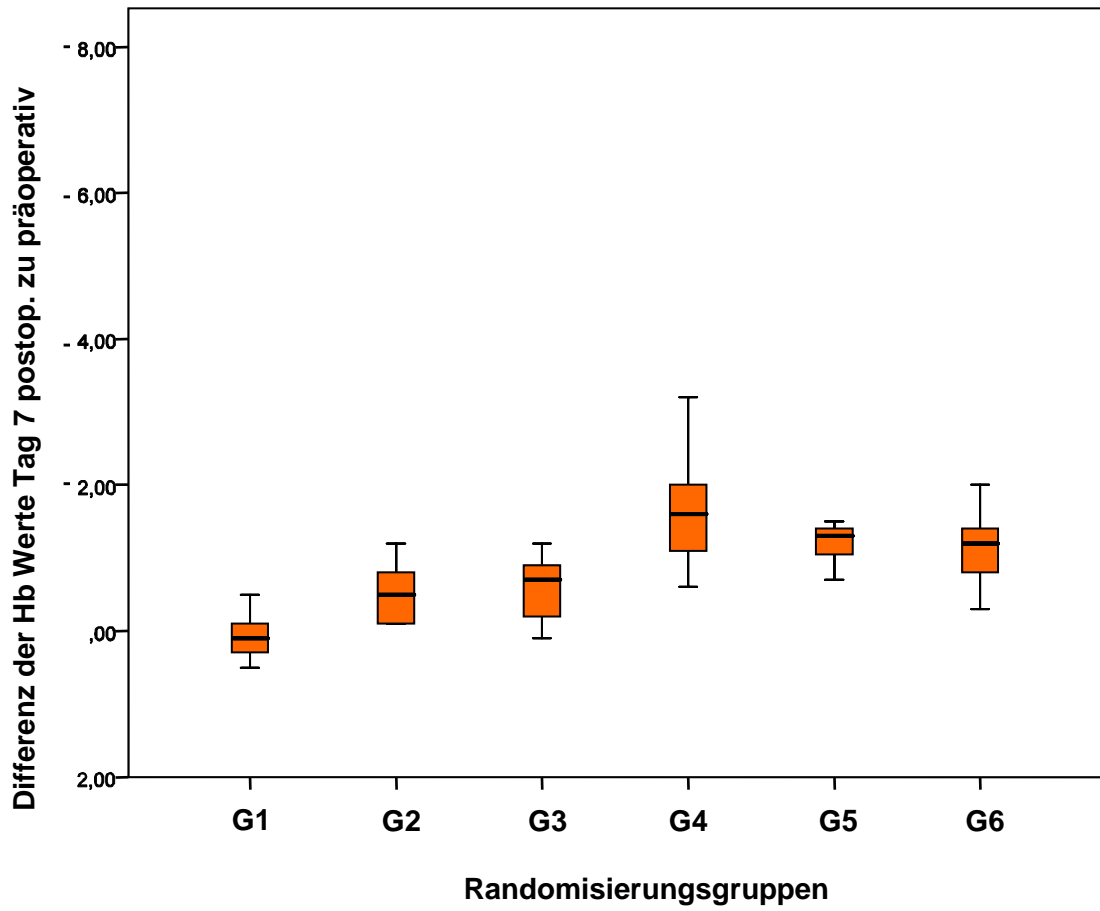


Abb.26: Boxplots der Differenz der Hb Werte präoperativ (Baseline) zum 7. postoperativen Tag

4.5.4.2. Leukozyten

Die Leukozyten zeigen schon in den präoperativen Werten innerhalb der Gruppen eine erhebliche Streuung, vor allem die Gruppe G6 weist in der Baseline im Mittelwert mit 13,3Gp/dl eine signifikant geringere Ausgangsgröße als die anderen Gruppen auf (P=0,003) (Tab. 12). Im postoperativen Verlauf kommt es bei den Therapiegruppen G2-G4 sowie G6 zum Ansteigen der Leukozytenzahl. In der Kontrollgruppe G1 bleibt die Leukozytenzahl mit einem Median von -0,1 stabil. Während die Leukozytenzahl der Gruppe G5 (HIPEC Gemcitabin) signifikant abfällt (Median -1,7; P<0,001) (Abb. 27).

Tab.12: Leukozytenzahl im perioperativen Verlauf

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	P Value
Werte in nl^{-1}							
Prä-OP							
Mittelwert (SD)	16,4±1,8	17,0±2,6	16,9±3,0	17,1±4,5	16,8±1,9	13,4±2,4	0,003*
Median	17,2	15,1	17,9	18,2	15,2	13,3	
Tag 3 Post OP							
Mittelwert (SD)	15,9±1,6	15,9±1,6	14,5±2,4	15,4±3,6	8,7±1,8	14,5±2,1	<0,001*
Median	16,0	15,2	14,5	15,4	8,9	14,6	
Tag 7 Post OP							
Mittelwert (SD)	16,0±2,2	19,2±3,2	19,9±2,9	22,1±5,6	10,2±2,9	18,6±3,8	<0,001*
Median	15,5	18,8	19,4	21,0	13,5	18,2	
Differenz							
Tag 7 – Prä-OP							
Mittelwert (SD)	-0,1±2,7	2,5±2,5	2,9±4,9	5,5±4,1	-5,7±4,3	5,2±3,9	<0,001*
Median	-0,1	3,8	2,4	4,0	-1,7	5,2	

*ANOVA, ** ANOVA adjustiert für Baseline

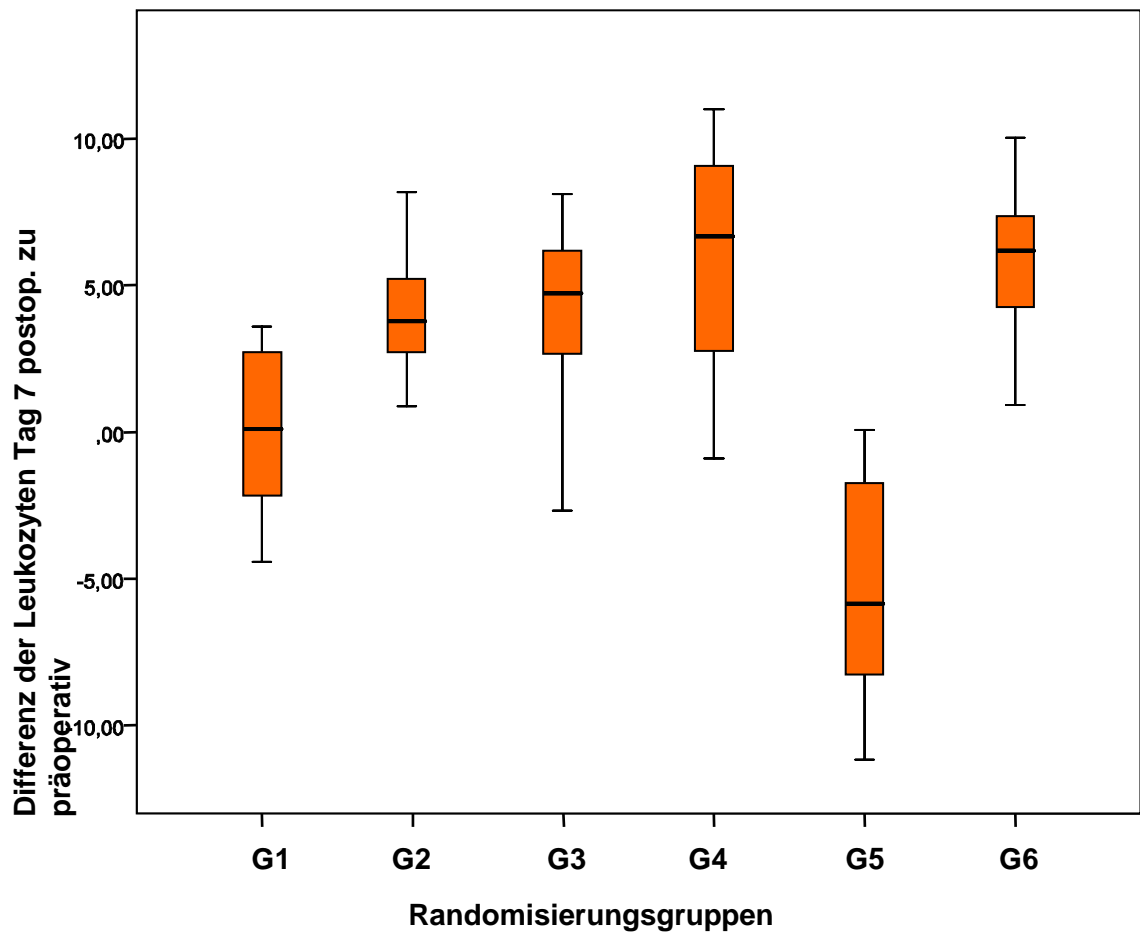


Abb.27: Boxplots zur Darstellung der Differenz der Leukozytenzahl präoperativ (Baseline) zum 7. postoperativen Tag

5. Diskussion

Auf Grund der Entwicklung der letzten Jahre mit einer zunehmenden Bedeutung multimodaler Therapien bei Vorliegen einer Peritonealkarzinose unter Verwendung des von Sugarbaker initiierten Programms mit zytoreduktiver Chirurgie und zusätzlicher HIPEC im klinischen Alltag, befassen sich gegenwärtig weltweit verschiedene Arbeitsgruppen mit der Schaffung neuer experimenteller Ansätze zu diesen Fragestellungen.

Die in der Klinik durchgeführten Therapien basieren auf theoretischen Überlegungen, einzelnen in vitro Modellen und inzwischen auch empirischen Erkenntnissen aus klinischen Studien. Im Tierversuch wurden bisher vor allem einzelne Abschnitte des multimodalen Konzeptes mit dem Schwerpunkt pharmakologischer Fragestellungen nachgestellt und untersucht (36;81;82;84-86;108;130-136). Auf Grund der zunehmenden Bedeutung des Therapiekomplexes entstanden zusätzlich in der letzten Zeit Arbeiten mit dem Hintergrund der Entwicklung multimodaler Therapieansätze auch im Kleintiermodell(53;55;137).

Mehrere größere Patientenstudien konnten einen Benefit einer aggressiven multimodalen Therapie mit Zytoreduktion und HIPEC gegenüber den bisher üblichen palliativen Chemotherapieregimen im Überleben zeigen(6;27-29;31;33;46;138-144).

Aus diesem Grund war das Ziel dieser Untersuchung die Evaluation eines multimodalen Therapiekonzeptes bei Peritonealkarzinose im Kleintiermodell mit Analyse der Machbarkeit und der Toxizität der Therapien. Im gleichen Ansatz sollten unterschiedliche multimodale Therapieansätze in ihrer Wirkung im Vergleich zum gegenwärtigen klinischen Standard untersucht werden.

5.1. Tumormodell

Das kolorektale Karzinom hat eine hohe Inzidenz von 30-35 Neuerkrankungen pro 100 000 Einwohner in der Bevölkerung Mitteleuropas. In Deutschland ist von jährlich 53 000 Neuerkrankungen auszugehen. Damit ist es die häufigste bösartige Erkrankung in Deutschland(145).

Zum Zeitpunkt der Erstdiagnose liegt bei 10% der Erkrankten nach Angaben von Brodski et al. eine synchrone Peritonealkarzinose vor(13). De Bree et al. geben in ihrer Untersuchung an, dass sich in ca. 8% der primär resezierten Kolonkarzinome im weiteren Verlauf eine Peritonealkarzinose ohne andere Tumorlokalisation ausbildet(146).

Aus diesen Verhältnissen ergibt sich eine relative Häufigkeit für das Vorliegen der Konstellation einer Peritonealkarzinose basierend auf einem kolorektalen Karzinom. Neben anderen Tumorentitäten wie dem Pseudomyxoma peritonei, dem peritonealem Mesotheliom oder dem Ovariakarzinom wurde in klinischen Studien der Effekt einer aggressiven multimodalen Therapie mit zytoreduktiver Chirurgie und HIPEC bei peritonealer Metastasierung des kolorektalen Karzinoms nachgewiesen(6;27-29;31;33;46;138-144).

Verwaal et al. konnten in der bisher einzigen prospektiv randomisierten Studie bei Peritonealkarzinose basierend auf einem kolorektalen Karzinom einen deutlichen Überlebensvorteil von 25% Fünfjahresüberleben im Studienarm (zytoreduktive OP mit HIPEC) gegenüber 0% Fünfjahresüberleben im konventionell behandelten Kontrollarm unter palliativer Chemotherapie nachweisen(6).

Auf der anderen Seite ist das Rattenmodell zur Implementierung einer Peritonealkarzinose in verschiedenen Arbeitsgruppen etabliert. Auch an unserer Klinik wurde zur Klärung anderer Fragestellungen die Implementierung einer Peritonealkarzinose mit der gleichen von uns verwendeten syngenetischen Kolonkarzinomzelllinie der Ratte erfolgreich durchgeführt(36;38;114;132;147).

Die Basis des Erfolgs liegt im Ansprechen der Tumorimplantation. Die subperitoneale Injektion der Tumorzellsuspension wurde in den Voruntersuchungen in der eigenen Klinik aber auch von anderen Gruppen wie Pelz et al. zur Erzeugung einer Peritonealkarzinose verwendet(82;132). In anderen Modellen wird die direkte Injektion der Tumorzellsuspension in die Peritonealhöhle zur Erzeugung einer Peritonealkarzinose beschrieben(53;137;148). Die eigenen Voruntersuchungen (5 Tiere) zeigten bei diesem Vorgehen eine solche rasche Tumorausbreitung und Tumorlast nach

kurzer Zeit, die ein chirurgisches Vorgehen nicht mehr erlaubten. So fällt es schwer, die in den Studien von Aarts erzielten Ergebnisse nachzuvollziehen(137;148).

Die in unserem Versuchsaufbau erzielte Ansprechrate von 98% Ausbildung einer Peritonealkarzinose liegt im Mittel anderer veröffentlichter Studien. Während Pelz et al. in ihrem Modell eine 100% Rate an nachgewiesener Peritonealkarzinose nach Tumorzellimplantation erzielten(82), berichten Los et al. von nur 80% Ansprechrate auf die Tumorzellimplantation mit Ausbildung einer Karzinose(89).

Alle Zellen wurden vorher durch Vitalfärbung auf ihre Vitalität geprüft, trotzdem konnte in 2 Fällen kein makroskopischer Tumornachweis im Versuchsverlauf erbracht werden(149). Eine Ursache liegt eventuell bei fehlerhafter Implantation oder der Aufbereitung der Zellen.

Die Ratte als Tiermodell hat sich in vielen anderen Untersuchungen als Versuchstier bewährt. Zu einem sind Ratten sehr stressresistent auch für aufwendige Versuchsverläufe. Sie haben eine ausreichende Größe, um auch umfangreiche operative Fragestellungen zu beantworten. Außerdem sind die Tumorzelllinien etabliert und getestet (53;130;147).

5.2. experimental Peritoneal Carcinomatosis Index (ePCI)

In den vergangenen 20 Jahren sind im klinischen Alltag bei der Zielsetzung einer kurativen Therapie bei Peritonealkarzinose verschiedene Klassifikations- und Scoringsysteme entstanden.

Das vorrangige Ziel dieser Klassifikationen ist im Rahmen des klinischen Stagings, Kriterien für Patienten zu entwickeln, die von einem multimodalen Therapiekonzept bei Vorliegen einer Peritonealkarzinose profitieren(52).

Weiterhin sollen diese Klassifikationen prognostische Rückschlüsse ermöglichen und vergleichende Analysen zulassen. Den im klinischen Alltag etablierten Schemata ist gemein, dass sie die Ausdehnung der Peritonealkarzinose unter Einbeziehung von Größe und Lokalisation der peritonealen Absiedlungen entwickelt.

Im Verlauf der Therapie stellt das Maß der Zytoreduktion einen weiteren prognostisch außerordentlich relevanten Faktor dar. Unterschiedliche klinische Scoringsysteme wurden so zur Beschreibung der Ausdehnung der Peritonealkarzinose beschrieben.

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt wird weltweit vor allem das von Jaquet und Sugarbaker inaugurierte System des Peritoneal Cancer Index verwendet. Aber auch andere Scoringsysteme wie das japanische P-Score System, das Gilly-Staging System oder der von der Amsterdamer Arbeitsgruppe von Zoetmulder und Verwaal eingeführte Simplified Peritoneal Cancer Index finden in der Literatur bzw. im klinischen Alltag Verwendung(47-50).

Entgegen der großen Anzahl der klinischen Scoringsysteme finden sich in der experimentellen Literatur zur Peritonealkarzinose keine einheitlichen Systeme. Aus diesem Grund haben wir auf der Basis des von Steller erstmals verwendeten Scoringsystems eine Weiterentwicklung eingeführt(129). Steller wie auch Pelz et al. haben in ihren Untersuchungen das Ausmaß der Peritonealkarzinose nur in Abhängigkeit von der Tumorgöße beschrieben(82;129). Monneuse verwendete in seinem Modell eine Aufteilung in insgesamt 18 Segmente(53).

Zur Einführung des ePCI haben wir die Bauchhöhle in 4 Quadranten eingeteilt, in Anlehnung an die im klinischen Alltag verwendeten Scoringsysteme. In jedem Quadranten wird die Tumorausdehnung nach Größe beschrieben (siehe Kapitel 3.2.5.1.). Dabei wird eine Einteilung von 0 für keinen Tumornachweis bis maximal 5 bei Tumorgöße konfluierend > 3cm beschrieben. So kann der maximale ePCI

Wert 20 betragen. Ziel eines Scoringsystems muss die einfache Vergleichbarkeit und Analyse sein.

In der statistischen Darstellung (Abb.13) zeigt sich eine hochsignifikante Korrelation der Anzahl der Tumorknoten zum ermittelten ePCI. Nur im ePCI findet die Größe der Tumorknoten zusätzlich Eingang in die Auswertung. Ein ähnlicher Ansatz lässt sich nach unserem Wissen zurzeit in der Literatur zu tierexperimentellen Studien nicht finden. Auf Grund der von uns gefundenen Zusammenhänge wurde in der weiteren Analyse der Therapieergebnisse auf die Analyse der Tumorknotenanzahl verzichtet und zur exakteren Beschreibung nur der ePCI ermittelt und analysiert.

In der statistischen Auswertung des ePCI zum Zeitpunkt der Therapie stellt der ePCI Wert einen hoch signifikanten Parameter hinsichtlich des zu erzielenden Resektionsstatus dar. In der Untersuchung wird auf Grund der Vereinfachung nur von R0 Resektion bzw. R2 Resektion berichtet. R0 Resektion beschreibt dabei den Zustand einer makroskopisch vollständigen Tumorentfernung. Während bei der R2 Resektion Tumor verbleibt.

Die im klinischen Alltag in der Regel zur Anwendung kommenden Scores wie Completeness of Cyto-reduction Score (CCS-Score) von Sugarbaker oder unterschiedlich definierte bzw. modifizierte R-Scoringsysteme wie von Shen et al., Verwaal et al. oder Ahmad et al. sind für eine tierexperimentelle Fragestellung nicht zu realisieren(6;150;151).

Vergleichende tierexperimentelle Studien liegen nicht vor. Die existierenden Untersuchungen geben keine exakte Aussage zum erzielten Operationsergebnis. Dies war in den vorliegenden Untersuchungen kein Zielkriterium(53-55;137;148). Eine Verbesserung des experimentellen Scoringsystems zur Zytoreduktion wäre sicher eine weitere interessante Fragestellung, da in verschiedenen klinischen Studien der Zusammenhang zwischen erzielter Tumorreduktion und Prognose der Patienten nachgewiesen wurde(40;139;152-156).

5.3. Ergebnis zytoreduktive Chirurgie

Die zytoreduktive Chirurgie nimmt eine Schlüsselstellung im multimodalen Therapiekonzept zur Behandlung der Peritonealkarzinose ein. Sugarbaker entwickelte zu diesem Zweck ein so genanntes „Peritonectomy Procedure“ mit dem Ziel der vollständigen Entfernung des sichtbaren Tumors(5).

Verschiedene Autoren konnten in ihren klinischen Studien die Bedeutung einer kompletten Entfernung des makroskopisch sichtbaren Tumors zeigen. In allen bisherigen klinischen Untersuchungen stellt die komplette Entfernung des Tumors in der statistischen Analyse einen der wichtigsten prognostischen Marker für das Überleben der Patienten dar(40;139;152-156).

Ein tierexperimenteller Ansatz, der diesen so wichtigen Schritt im Gesamtkonzept der multimodalen Therapie nachvollzieht, ist parallel in verschiedenen Arbeitsgruppen international entwickelt wurden. Dabei zeigt sich in den Gruppen von Monneuse und Aarts ein differentes Vorgehen bei der Operation zu unserer chirurgischen Taktik. Eine Aussage zu den erzielten Ergebnissen hinsichtlich der Zytoreduktion und der vorliegenden Tumormasse ist in den Arbeiten allerdings nicht zu finden(53;54;148). Dies sind aber im klinischen Alltag wichtige Marker für das Outcome der Patienten.

Bei 47,2% der operierten Tiere konnte eine makroskopisch komplette Tumorentfernung erreicht werden. Ein Vergleich zu den anderen Arbeitsgruppen ist dabei nicht möglich, da in keiner anderen Arbeit der exakte Erfolg der erzielten Tumorreduktion beschrieben ist(53;54;137;148).

Dabei zeigt sich eine hoch signifikante Korrelation zwischen dem erzielten Operationsergebnis und dem ermittelten ePCI sowie der Tumorknotenanzahl. Dieser Zusammenhang ist auch oft in den klinischen Untersuchungen Fokus der Diskussion. So gibt es Empfehlungen, bei höheren PCI (>20) auf eine multimodale Therapie in Abhängigkeit der Tumorentität zu verzichten, da die Patienten bei inkompletter Tumorentfernung und dem Belassen von größeren Tumormassen keinen Überlebensvorteil gegenüber palliativ behandelten Patienten aufweisen(40;45;47;52;129;157-159). Ein exaktes Scoring des vorliegenden Tumors und des erzielten Operationsergebnisses ist deshalb sehr wichtig (siehe Kapitel 5.2.).

Das Ziel unserer Untersuchung war die Analyse der Machbarkeit eines solchen Therapiekonzeptes. Aus diesem Grund wurden alle in den Therapiegruppen randomisierten Tiere operiert, mit dem Ziel der maximal möglichen operativen

Tumorreduktion. Auf eine Koagulation des verbliebenen Testtumors wurde gezielt verzichtet.

Neben der gegebenen Tumorlast, beschrieben durch den ePCI, stellt sich die Tumorlokalisierung als teilweise limitierender Faktor zur Tumorreduktion im Kleintiermodell dar. Während die partielle parietale Peritonektomie im Ober- und Unterbauch relativ komplikationslos durchführbar ist, können Tumorimplantate im Bereich des Leberhilus, des Milzhilus, im Dün- und Dickdarmmesenterium oder im Bereich des diaphragmalen Peritoneums trotz Nutzung von Lupenbrillen und Operationsmikroskop mit Mikroinstrumentarium nur partiell entfernt werden.

Ein weiterer wichtiger Faktor bei Operationen im Rattenmodell sind Blutverluste. Bei einem durchschnittlichen Blutvolumen von 6-10ml haben schon geringe Verluste signifikanten Einfluss auf das postoperative Auskommen.

Zusätzlich ist das schnelle Auskühlen der Tiere, die sehr temperaturempfindlich sind, zu beachten. Zu diesem Zweck wurde eine Wärmematte verwendet und die reine Operationszeit sollte 25 min nicht überschreiten. Die durchschnittliche Operationszeit lag bei 23min.

Dies alles sind Probleme bei Kleintiermodellen. Dieses Vorgehen wird auch von den anderen Arbeitsgruppen bestätigt(53;54;148).

Die postoperative Mortalität lag bei 8,1% (6Tiere). Alle Ereignisse lassen sich auf Probleme im Operationsergebnis nach Obduktion zurückführen. Neben zwei Ileuszuständen mit Volvulus des Darms zeigten sich eine Blutung im Milzhilus, eine Anastomoseninsuffizienz nach notwendiger Darmsegmentresektion und zwei Darmischämien ursächlich für den Tod der Tiere.

Alle Operationen wurden von einem Operateur ausgeführt, der in Voruntersuchungen die Möglichkeiten der Operation getestet hat. Trotzdem zeigt sich im Studienverlauf eine Lernkurve. Die ersten fünf Todesfälle ereigneten sich im ersten Drittel der Operationen. Dieses Phänomen ist von verschiedenen Autoren auch für Komplikationen in klinischen Untersuchungen nachgewiesen. So konnten mehrere Autoren ihre Mortalitätsraten wie auch die Morbiditäten im multimodalen Therapiekonzept mit steigenden Patientenzahlen deutlich reduzieren(160-162).

Insgesamt ist eine gezielte Tumorreduktion bei Vorliegen einer Peritonealkarzinose im Rattenmodell machbar. Dabei kann in einem großen Anteil eine makroskopisch vollständige Tumorentfernung bzw. eine deutliche Tumorreduktion erzielt werden. Diese sind Voraussetzung für adjuvante Therapiekonzepte.

5.4. Therapieverlauf

Unabhängig vom Operationsergebnis nach durchgeführter zytoreduktiver Therapie wurden die Tiere je nach Randomisierung in den Gruppen G3 bis G6 unterschiedlichen adjuvanten Therapien zugeführt. Alle Therapieoptionen konnten problemlos durchgeführt werden. Die Tiere wurden dabei repetitiv mit Ketamin und Rompun intraperitoneal bei Spontanatmung narkotisiert bzw. analgesiert.

Die Abläufe sind im Methodenteil beschrieben. In den Gruppen der hyperthermen Chemotherapie (HIPEC) spielt die erreichte Temperatur eine wichtige Rolle. In beiden Gruppen lag die mittlere intraabdominale Temperatur bei $40,7 \pm 2,0^\circ\text{C}$ in G3 (MMC), bzw. $41,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ in G5 (Gemcitabine). Diese Temperaturen liegen in der geforderten Höhe von ca. $40\text{-}42^\circ\text{C}$ zur Wirksamkeit der hyperthermen Chemotherapie(91;92;144;163-166).

Die Tiermodelle von Pelz et al. sowie von Aarts et al. zu dieser Therapie zeigt in den Temperaturverteilungskurven ähnliche Werte(55;82). Jacquet et al. haben in einem Spülversuch bei Ratten den Einfluss unterschiedlicher Temperaturen auf die Pharmakokinetik, Metabolisierung und Gewebepetration von Doxorubicin untersucht und nachgewiesen(85).

Zur exakten Temperaturverteilung müssten weitere Sonden verwendet werden, wie es in mehreren klinischen Studien zur Anwendung kommt. Dies lässt sich auf Grund der von uns verwendeten relativ starren Thermosonden nicht realisieren und bedarf eventuell weiterer Untersuchungen unter verbesserten Bedingungen. Die exakte Bestimmung der Temperatur war aber unter den gegebenen Studienbedingungen möglich. Eine Regulierung der intraabdominalen Temperatur erfolgte wie im klinischen Alltag über die Flussgeschwindigkeit der Spüllösung sowie über die Heizung der Lösung.

In beiden Untersuchungen verwendeten wir als Trägersubstanz 250 ml isotoner NaCl Lösung. Die Trägersubstanz war nicht Ziel der Untersuchung, wird aber in verschiedenen experimentellen und klinischen Untersuchungen bei der HIPEC kontrovers diskutiert(135;167-169). Gegenwärtig werden unterschiedliche Substanzen als Trägerlösung verwendet. Messbare Unterschiede in der Verteilung und Resorption lassen sich aber in den Untersuchungen nicht finden. Mohamed schlussfolgert in einer Zusammenfassung, dass zum Festlegen von Richtlinien weitere Untersuchungen notwendig sind(170).

Auch die Menge der Trägersubstanz wurde in klinischen Studien schon analysiert. Dabei fanden Witkamp et al. einen Einfluss der Menge auf die Resorptionsrate im Gewebe bei der HIPEC mit Mitomycin C(163). In unserer Untersuchung stand die Machbarkeit im Mittelpunkt. Eine Menge von 250ml ließ sich unproblematisch in einen zirkulierenden Kreislauf bei entsprechender Temperatur und ausreichendem Flüssigkeitsspiegel in der Bauchhöhle der Tiere bringen.

Bemerkenswert hierbei ist, dass die Tiere bei der Chemotherapie in eine leichte Antitrendelenburglage gebracht werden mussten, sonst zeigte sich eine zunehmende Zyanose mit Bradycardien bei den Tieren auf Grund des entstehenden intraabdominalen Drucks. Pelz et al. verwendeten in ihrem Studienansatz mit HIPEC bei der Ratte eine Intubationsnarkose und konnten ein solches Verhalten nicht registrieren(82). Auch Aaarts et al. berichten nicht über solche Beobachtungen. Sie nutzten in ihrem Versuch eine Intubationsnarkose und die Spülung wurde im Gegensatz zu unserem Ansatz in geschlossener Technik durchgeführt(55). Da aber keines unserer Tiere während der Therapie verstarb, halten wir eine intraperitoneale Narkose für ausreichend.

Taurolidin wurde an unserer Klinik in mehreren Studien auf unterschiedliche Weise appliziert. Dabei zeigte sich eine gute Verträglichkeit mit nachgewiesener Wirkung bei intraperitonealer Tumoraussaat(116-118;171). Bisher existieren keinerlei Untersuchungen zur hyperthermen Verwendung von Taurolidin, weder in Zellkulturen noch in tierexperimentellen Ansätzen. Auch die Thermostabilität des Medikamentes ist nach unserem Wissen bisher nicht untersucht. Aus diesen Gründen haben wir auf eine hypertherme Applikation verzichtet.

Taurolidin hat nur eine relativ kurze stabile und wirksame Halbwertszeit(172). Aus diesem Grund wurden die Tiere nur für 30min bei isothermen 37°C gespült. Auf diese Temperatur wurde das Medikament erwärmt, damit die Tiere nicht auskühlen. Auch hier wurde eine leichte Antitrendelenburglagerung notwendig, wie oben beschrieben.

Im Therapieverlauf gab es keine Probleme. Zum Zeitpunkt der Obduktion zeigten die mit Taurolidin behandelten Tiere eine vermehrte Bildung von Adhäsionen, die eventuell durch die Therapiezeit mit 30 min bei einer elektrolytfreien Lösung bedingt sein könnten. Entsprechende Hinweise in der gängigen Literatur lassen sich nicht finden. Diese Adhäsionen sind ein beobachteter Nebeneffekt ohne sichere Evaluation, da dieser keines der Zielkriterien darstellte.

Die Photodynamische Therapie (PDT) hat sich in den vergangenen Jahren in tierexperimentellen wie auch in klinischen Studien bei unterschiedlichen Tumorentitäten etabliert(120;126;127;173-179).

Zur Sensitivierung der Tumorzellen werden unterschiedliche so genannte Sensitizer verwendet. In den meisten Fällen kommt Proporphyrin zum Einsatz in den Studien. Aber auch andere wie 5 Aminolävulinolinsäure sind inzwischen evaluiert. In unserer Untersuchung haben wir 5 Aminolävulinolinsäure verwendet. Der Vorteil dieses Medikamentes ist die kurze Halbwertszeit(180). Aus diesem Grund kann nach der Therapie auf die verlängerte Verdunklung wie bei anderen Photosensitizern notwendig verzichtet werden.

Zur optimalen Anreicherung ist die Gabe der notwendigen Dosis ca. 6h vor der eigentlichen Behandlung notwendig. Eine sichere intravenöse Applikation wird dabei über die V. dorsalis penis realisiert. Dies bedarf aber einiger Übung. Die Applikation des Laserlichts ist in Abbildung 10 dargestellt und unter Einhaltung aller Sicherheitsmaßnahmen unproblematisch.

Bei der Bestrahlung wird das Bestrahlungsfeld als plane Oberfläche idealisiert. Dies ist sicherlich bei der Form der Bauchhöhle problematisch. Es werden nur die Anteile behandelt, die im direkten Strahlengang liegen. Dies wurde auch schon von anderen Autoren bei anderen Versuchsaufbauten diskutiert(181;182).

Durch die Applikation des Laserlichts kommt es zur Austrocknung des Gewebes, die eine wiederholte Anfeuchtung des Bestrahlungsgebietes notwendig macht. Trotz wiederholtem Anfeuchten des Bestrahlungsfeldes zeigten sich am Ende der Behandlung vor allem im Bereich des direkt im Strahlengang liegenden Leberparenchyms oberflächliche Verbrennungen bei insgesamt 3 Tieren (20%). Sonst traten keine Komplikationen im technischen Ablauf auf. Schwerwiegende Komplikationen, wie zum Beispiel ein „capillary-leak syndrome“, wie von Canter bei peritonealer PDT beschrieben, konnten wir nicht beobachten(183).

Alle Tiere haben die adjuvanten Behandlungen gut toleriert. Es hat sich gezeigt, dass auch aufwendige Therapieoptionen technisch durchführbar sind und von den Tieren auch im multimodalen Konzept toleriert werden. Vergleichbare Beschreibungen eines Tierversuches lassen sich in keinem der verwendeten Optionen in der Literatur finden. Der technische Ablauf wurde bisher nur in einzelnen Teilabschnitten unter verschiedenen Optionen und Zielsetzungen und bei anderen Tumormodellen beschrieben(126;176;181;184-186).

Mit der technischen Machbarkeit der einzelnen Therapien ist eine Voraussetzung für die Lösung weiterer komplexer Fragestellung gegeben.

5.5. Therapieergebnisse

Bei einer Mortalität von 7 Tieren (8%) können insgesamt 83 Tiere hinsichtlich der Zielkriterien untersucht werden. Die in der Literatur zur Verfügung stehenden Vergleiche sind dabei gering. Die Mortalität liegt aber in den Veröffentlichungen niedriger bei bis zu 5%(53;54;137;148;187). Die im Verlauf der Studie verstorbenen Tiere wurden aus der weiteren Analyse ausgeschlossen (Tab. 3).

Die Stichprobe von 82% der randomisierten Tiere stellt eine ausreichend große Stichprobe dar. Auch die Verteilung der verstorbenen Tiere in den einzelnen Gruppen (Tab.2) ist nicht signifikant.

Zur Beantwortung der Fragestellung nach der effektivsten Therapie wurden die Tumormasse und ePCI zum Abschluss der Untersuchung analysiert. Die Tumormasse als Zielkriterium in tierexperimentellen Ansätzen wurde von verschiedenen Autoren als Hauptzielkriterium bei ähnlichen Fragestellungen diskutiert und stellt gegenwärtig den wichtigsten Parameter einer tierexperimentellen Untersuchung dar(82;108;114;116). Alle anderen Faktoren sind deutlich mehr vom Untersucher abhängig.

Der ePCI stellt aus unserer Sicht den objektivsten weiteren Parameter zur Analyse eines Therapieerfolges mit dem Ziel einer Tumorreduktion bzw. vergleichender Untersuchungen bei Peritonealkarzinose im Tiermodell dar. Dies wurde ausgiebig im Kapitel ePCI besprochen. Beide Zielkriterien werden nachfolgend in eigenen Abschnitten unter Berücksichtigung der Therapieoptionen analysiert.

5.5.1. Therapieergebnis - Tumormasse

Die Tumormasse stellt das Hauptzielkriterium zum Abschluss der Untersuchung dar. Die Analyse der Tumormasse erfolgte geblendet nach Tötung und Feststellung des ePCI der Tiere unter subtiler Entfernung der Tumorknoten aus dem Situs unter Verwendung von Lupenbrillen. Dieses Vorgehen wird von anderen Autoren in gleicher Weise beschrieben. Erst nach Bestimmung der Tumormasse wurden die Tiere der Randomisierung zur besseren Objektivierung der Ergebnisse zugeordnet. Damit wird dem Anspruch an eine objektive Ergebniserhebung entsprochen.

Die mediane ermittelte Tumormasse über alle Gruppen liegt bei 1,88g (range 0-23,4g) bei einer erheblichen Streuung der Werte. Diese Streuung ist von unterschiedlichen Faktoren abhängig. In der Erfassung sind alle Gruppen vertreten, die Therapiegruppen und die Kontrollgruppe. Dabei weist die Kontrollgruppe mit einer medianen Tumormasse 6,4g den auffällig höchsten Wert auf.

Alle Tiere aus der Kontrollgruppe zeigten ein Tumorwachstum. Bei 2 Tieren der Therapiegruppen war zum Therapiezeitpunkt kein Tumorwachstum sichtbar. Diese wurden aber nach Randomisierung behandelt. Auch in anderen Studien mit der Implementierung einer Peritonealkarzinose und Therapie zeigt sich eine hohe Varianz der Ergebnisse hinsichtlich der entstehenden Tumormasse.

In der Literatur werden unterschiedliche Faktoren wie immunologische Einflussfaktoren oder die Instabilität biologischer Systeme diskutiert(36;130;147;172).

Die Verteilung der medianen Tumormasse in den einzelnen Randomisierungsgruppen ist in Tabelle 3 abgebildet. Hier lässt sich ein hochsignifikanter Einfluss einer stattgehabten Therapie im Vergleich zur Kontrollgruppe nachweisen.

Alle Therapiegruppen haben zum Untersuchungsabschluss eine signifikant geringere Tumormasse als die Kontrollgruppe (Abbildung 14). Bei der Analyse der Beziehungen zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen lassen sich aber keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Tumormasse finden.

Im Vergleich der Gruppen mit einer adjuvanten Therapie (G3-G6) zur alleinigen zytoreduktiven Behandlung (G2) zeigen sich keine signifikanten Unterschiede. Einzige Gruppe G3 (HIPEC MMC) weist tendenziell eine geringere Tumormasse auf.

mit auch geringerer Range auf, ohne eine statistische Signifikanz nachweisen zu können ($P=0,09$) (Abb. 14). Die Wirksamkeit der Therapie mit einer HIPEC MMC Therapie bei einem ähnlichen Modell ohne operative Tumorreduktion konnten Pelz et al. in ihrer Untersuchung nachweisen. Große klinische Studien haben den therapeutischen Erfolg dieser Behandlung bei Peritonealkarzinose ebenfalls nachgewiesen(7;24;27-35). So ist MMC gegenwärtig die am häufigsten verwendete Substanz bei der HIPEC zur Behandlung der Peritonealkarzinose bei kolorektalem Karzinom(46).

Hinsichtlich der Tumormassenreduktion konnten die anderen adjuvanten Therapieoptionen im Vergleich zur alleinigen operativen Tumorreduktion keinen signifikanten Vorteil erbringen. Natürlich ist die Aussage bei der großen Varianz der Ergebnisse (mediane Tumormasse) sowie der kleinen Gruppengrößen erheblich eingeschränkt.

In unserem tierexperimentellen Versuchsansatz hat die gegenwärtige klinische Standardtherapie ihren „Vorteil“ bestätigen können. Die in anderen Studiengruppen gezeigte Wirksamkeit von Taurolidin, Gemcitabine oder auch einer Photodynamischen Therapie hinsichtlich einer zusätzlichen Tumormassenreduktion konnte in unserem Untersuchungsansatz nicht nachgewiesen werden.

In der Anova Analyse der Tumormasse hinsichtlich des operativ erzielten Resektionsstatus zeigt sich ein hoch signifikanter Einfluss einer erzielten R0 Resektion hinsichtlich der Tumormasse innerhalb der einzelnen Therapiegruppen (G2-G6).

Zwischen den Therapiegruppen bestehen aber auch unter Berücksichtigung des Resektionsstatus keine signifikanten Unterschiede bei statistisch eingeschränkter Aussage auf Grund der geringen Gruppengrößen (P -Wert OP-Gruppe = 0.179, P -Wert Zytored <0.001 , P -Wert Interaktion OP-Gruppe-Zytored = 0.354) (Tab. 4). Eine weitere exakte Aussage kann bei kleinen Fallzahlen statistisch nicht getroffen werden.

Der Einfluss der operativen Tumorreduktion auf das Endergebnis wurde in den vorstehenden Kapiteln schon ausführlich diskutiert und lässt sich anhand der Varianzanalyse auch in unserer Studie nachweisen.

5.5.2. Therapieergebnis – ePCI

Der ePCI stellt neben dem Hauptzielkriterium Tumormasse den wichtigsten Parameter zur Bemessung des Therapieerfolges dar. Die Einführung und der Aussagewert des Index werden oben ausführlich erörtert.

Das verwendete Therapiemodell mit Analyse der Tumormasse bzw. eines weiteren Indexes wurde auch schon von anderen Autoren unter ähnlichen Fragestellungen verwendet. Allerdings sehen wir in der Einführung des ePCI eine Verbesserung und bessere Differenzierung der Ergebnisse im Vergleich zu der von Steller bzw. Pelz verwendeten Einteilung(82;129). Der von Monneuse et al. verwendete Score mit 18 verschiedenen Regionen ist aus unserer Sicht im Kleintiermodell unpraktikabel und schwer reproduzierbar(53).

Die erreichten Werte hinsichtlich des ePCI unterliegen zum Untersuchungsende einer erheblichen Streuung in allen Gruppen. Im Vergleich der Kontrollgruppe G1 zu den Therapiegruppen G2-G6 besteht ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des medianen ePCI. Dies bedeutet, dass die durchgeführte multimodale Therapie zu einer Verringerung der Tumorlast zum Abschluss der Untersuchung geführt hat. Dies entspricht auch dem Verhalten des Hauptzielkriteriums (Tumormasse).

Zwischen den einzelnen Therapiegruppen zeigen sich deutlich weniger Unterschiede. Nur in der Gruppe G3 (HIPEC Mitomycin C) besteht ein signifikanter Unterschied zum Tumordebulking allein. Das bedeutet, dass eine zusätzliche Therapie mit hyperthermer intraperitonealer Chemotherapie mit Mitomycin in unserem Modell einzig eine Verbesserung des Therapieergebnisses im Vergleich zur alleinigen operativen Therapie erbracht hat. Während sich dieses Ergebnis zwar im Trend auch in der Tumormasse darstellte, kann es anhand des ePCI statistisch nachgewiesen werden.

Die anderen Therapieformen zeigen auch untereinander keine signifikanten Veränderungen. Auffällig ist hierbei, dass in der Mitomycingruppe als einzige der maximale ePCI Wert bei 14 liegt, während in allen anderen Gruppen der maximal festzustellende Wert (20) bei wenigstens einem der Tiere nachgewiesen wird.

Durch Hinzuziehen des Resektionsstatus wird, wie schon bei der Tumormasse, ein deutlich signifikanter Einfluss der R0 Resektion auf den zu erwartenden ePCI festgestellt. Die statistische Aussagekraft ist aber auf Grund der weiter verringerten Gruppengrößen niedrig.

Den Nachweis des Einflusses von einer HIPEC mit Mitomycin auf das Tumorwachstum von Kolonkarzinomzellen im Peritoneum konnten schon Pelz et al. in ihrem Modell nachweisen. Aber auch andere Gruppen wie von Ridwelski et al. konnten einen solchen Einfluss von Gemcitabine intraperitoneal auf das Tumorwachstum erbringen(39). Braumann und Jacobi haben den Einfluss von Taurolidin auf das Tumorwachstum in ihrem Tiermodell gezeigt(36;117;118). Veenuizen et al. wiesen den Einfluss von PDT auf Tumorzellen intraperitoneal nach(124;188). Einen Vergleich all dieser Therapien gibt es unseres Wissens nach aber nicht. In unserer Untersuchung kann der zu ermittelnde Index am Ende der Therapie nur signifikant durch eine multimodale Therapie mit Mitomycin verringert werden.

Dieses Ergebnis entspricht den gegenwärtigen klinischen Gegebenheiten der Behandlung von Peritonealkarzinosen beim Kolonkarzinom durch multimodale Therapiekonzepte. Hierbei kommen zurzeit zumeist Therapien mit MMC zum Einsatz(46).

5.6. Toxizitätsanalyse

Neben der schon diskutierten Mortalität steht neben der Durchführbarkeit eines komplexen Therapieregimes die Verträglichkeit im Focus der Untersuchung. In unserem Versuch haben wir zu diesem Zweck das Tierverhalten im postoperativen Verlauf geblindet dokumentiert. Toxizitätsanalysen und ihre möglichen Messparameter im Kleintiermodell sind in der Literatur rar.

Als objektive Parameter wurden engmaschige Gewichtskontrollen durchgeführt. Erstmals wurde in einem solchen Therapiekomplex eine Echokardiografie zur Analyse von kardiogenen Schädigungen nach unserem Wissen verwendet. Die zusätzlichen Blutbilduntersuchungen zur Analyse der Zytotoxizität runden die Verträglichkeitsuntersuchungen ab und werden einzeln diskutiert.

5.6.1. Tierverhalten und Gewicht

Das Tierverhalten ist Ausdruck des Stresses, dem die Tiere im Verlauf der Therapie ausgesetzt sind. Die UKCCCR hat feste Richtlinien zur Beurteilung und des notwendigen Handlungsbedarfs herausgegeben(128). Alle in Deutschland durchgeführten Tierversuche müssen sich an diese Regelungen halten. Gleichzeitig bilden diese Beurteilungskriterien der Tiere eine Möglichkeit zur Einschätzung der allgemeinen Beeinflussung der Tiere durch eine Therapie.

Zur besseren Darstellung und statistischen Erfassung wurden die vorgegebenen Kriterien in ein Ranking von 1 bis 5 zugeordnet (Siehe Kapitel 3.3.1.) und täglich einmal erfasst. Dabei bedeutet „1“ Normalverhalten und „5“ Tier mit schwersten körperlichen Einschränkungen. Bei den Kriterien 4 und 5 muss das Tier getötet werden.

In der Literatur lässt sich ein vergleichbarer Ansatz zur Beurteilung und Unterscheidung im Verhalten nach einer Therapie nicht finden. Die Gründe dafür sind wahrscheinlich auf unterschiedlicher Ebene angesiedelt. Die Beurteilung der Tiere nach den Einschätzungskriterien ist einerseits subjektiv vom Untersucher abhängig. Auf der anderen Seite gibt die Einschätzung nur eine Momentaufnahme wieder, da die Tiere nicht kontinuierlich überwacht werden können. Nur deutliche bzw. schwerwiegende Veränderungen im Verhalten können sicher analysiert werden. Diese sollten und müssen dann bei erheblichen Leiden der Tiere zur umgehenden Tötung führen.

Keines der untersuchten Tiere der vorliegenden Studie musste auf Grund von Verhaltensauffälligkeiten im postoperativen Verlauf getötet werden.

In unserer Untersuchung zeigen sich schon in der Baseline, das heißt in der ersten Untersuchung nach der Therapie (1. postoperativer Tag) Unterschiede. Diese sind bedingt durch das Ausmaß der Therapie. Ein signifikanter Unterschied lässt sich dabei auch im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht finden (Tab. 6).

Diese Unterschiede verschwinden im postoperativen Verlauf fast vollständig. Die einzige Veränderung, die sich im weiteren Verlauf abzeichnet, scheint der Einfluss des Tumorwachstums auf das Befinden der Tiere zu sein. In der statistischen Analyse der Veränderung vom Ausgang zum Endpunkt des Versuchs vor der geplanten Tötung zeigt sich in der Kontrollgruppe G1 ein Anstieg des Wertes, gleichbedeutend mit einer Verschlechterung des Zustandes der Tiere. Dies würde korrelieren mit der vorliegenden Tumormasse bei diesen Tieren (siehe Kap. 5.5.1.).

Eine exakte Aussage über die Verträglichkeit bzw. den Einfluss unterschiedlicher Therapieoptionen ist mit diesem Ansatz aus unserer Sicht und den gewonnenen Erfahrungen nicht möglich. Andere besser vergleichbare Parameter müssen zur Darstellung des postoperativen Verhaltens gefunden werden.

Ein solcher möglicher Parameter stellt das Gewicht der Tiere dar. Dies kann objektiv in identischen Abständen problemlos geblindet bestimmt werden. Dieser Parameter sollte korrelieren zu Verhaltensänderungen, da Futterabneigung relativ schnell bei den Tieren zu Gewichtsverlusten führt.

Eine Reihe von Untersuchungen und Forschungen, vor allem in der experimentellen Diabetesforschung sowie anderen endokrinologischen Fragestellungen (z. B. hormonelle Veränderungen bei Fettsucht) sind gegenwärtig in der Literatur in der Diskussion(189;190). Hier stellen die postinterventionellen Gewichtsverläufe ein wichtiges Merkmal zur Analyse der erfolgten Interventionen dar. So berichten Ursino et al. bei einer experimentell ausgelösten Colitis von unterschiedlichen Gewichtszunahmen als Zeichen der Entzündungsaktivität(191).

Aber auch der Einfluss von Stress auf das Futterverhalten und die dadurch auftretenden Gewichtsveränderungen wurden in einer anderen Gruppe (Lucca et al.) untersucht(192). Earp et al. schließen in ihrer Untersuchung in einem Arthritismodell auch auf der Basis des Gewichtsverlauf auf die Aktivität der vorliegenden Krankheit(193;194).

Auf Grund dieser unterschiedlichen Ansätze scheint der Gewichtsverlauf ein probates Mittel zur Darstellung des postoperativen Verhaltens bzw. Einflusses der Therapie.

In unserer Untersuchung zeigt sich allerdings schon bei der Baseline ein signifikanter Unterschied im Mediengewicht. Alle Tiere nehmen im Verlauf der Studie zu. Auffällig ist hierbei, dass die Tiere der Gruppe G5 nur 8g Gewichtszunahme zu verzeichnen haben, im Vergleich zu 23 bis 32g im Median zu allen anderen Gruppen. Ein statistisch signifikanter Unterschied in der Baseline adjustierten ANOVA ist allerdings nicht möglich.

Ursache dafür sind einmal die geringe Gruppengröße sowie die erheblichen Unterschiede in den Ausgangswerten. Allerdings ist der Wert sehr auffällig und muss mit der Belastung bzw. der systemischen Wirkung der Therapie in Zusammenhang gesehen werden.

Bis auf die Kontrollgruppe (ohne Intervention) zeigen die Gewichtsverlaufskurven einen geringen Einschnitt postoperativ, der aber rasch auch im Vergleich zur

Kontrollgruppe ausgeglichen wird. Einen deutlichen Unterschied, wie ihn zum Beispiel Lucca et al. in seiner Studie bei unterschiedlichen Interventionen zeigen konnte, finden wir in unserer Untersuchung nicht(192).

In der postoperativen Verlaufskontrolle stellt die Analyse der Gewichtsverläufe ein gutes Mittel zum Einfluss einer Intervention auf die Tiere dar. Eine ausschließliche Untersuchung des Tierverhaltens anhand vorgegebener Skalen ist dagegen aus unserer Sicht nicht ausreichend. Es dient vor allem zur Sicherung, den Tieren im Versuchsverlauf Leiden zu ersparen.

5.6.2. Echokardiografie

Die cardiale Funktion spielt eine zentrale Rolle in der Analyse der Verträglichkeit von onkologischen Therapien und ist in vielen Fällen ein limitierender Faktor in der Durchführung adjuvanter therapeutischer Konzepte nach ausgedehnten Operationen. Mit der Echokardiografie steht eine Untersuchungsmethode zur Objektivierung postinterventioneller Veränderungen in der Funktionalität des Herzens zur Verfügung. Aus diesem Grund haben wir auf der Suche nach weiteren objektiven Parametern zur Bestimmung von Einflussgrößen auf den perioperativen Verlauf multimodaler Therapien im Rattenmodell bei den Tieren im Verlauf echokardiographische Untersuchungen durchgeführt.

Hierbei wurde erstmals eine 2D Strain Echokardiografie zur Evaluierung von regionalen ventrikulären Funktionsstörungen im Verlauf von onkologischen Therapien genutzt. Die ebenso durchgeführte konventionelle Echokardiografie zeigt, dass im Versuchsverlauf die systolischen und diastolischen Parameter durch die unterschiedlichen Therapien nicht beeinflusst werden.

Im Gegensatz dazu ist in der 2D Strain Untersuchung der inferioren Wand eine leichte, aber signifikante Reduktion der Werte in der Behandlungsgruppe (G2-G6; „therapy“) im Vergleich zur Kontrollgruppe (G1) nachweisbar (Tabelle 9). Ein signifikanter Unterschied innerhalb der Therapiegruppen lässt sich auch mit dieser Methode nicht zeigen.

Bisherige Studien haben in den vergangenen Jahren nur unterschiedlichste Herzerkrankungen im Tiermodell mit einem Trend zu nichtinvasiven Verfahren genutzt(195).

M-Mode und 2D Echokardiografie sind adäquate Untersuchungsmethoden zur Darstellung von Wandbewegungsabnormalitäten. Die Untersuchung von Wandbewegungsanomalien des Rattenherzens stellt aber auch auf Grund seiner Größe und der hohen Herzfrequenz eine Herausforderung zur exakten Messung der notwendigen Parameter dar. Die bisher dazu veröffentlichte Literatur ist limitiert(196-198).

Nach den Untersuchungen von Hirano et al. sind die Analyse von Strain und Strain Rate (SR) hilfreich zur nichtinvasiven Quantifizierung von Veränderungen regionaler kontraktile Funktionen des Herzmuskels der Ratte(199).

Es ist allgemein anerkannt, dass chirurgische Eingriffe, Chemotherapien oder auch Narkosemittel Einfluss auf die myokardiale Funktion haben. Plante et al.

konnten in ihren Untersuchungen einen direkten Einfluss von Narkotika auf die systolischen und diastolischen Funktionsparameter in echokardiografischen Untersuchungen nachweisen(200).

MMC und Gemcitabine besitzen einen potentiellen kardiotoxischen Effekt mit Einfluss auf die Kontraktilität. Das zur Narkose verwendete Ketamin hat in Tierexperimenten zusätzlich einen negativen Effekt auf die diastolischen Funktionsparameter gezeigt(201).

In unserer Untersuchung zeigen sich die linksventrikulären Funktionsparameter, die EF sowie die diastolischen Funktionen nicht beeinflusst, weder durch die vorgenommene Sedierung der Tiere noch innerhalb der unterschiedlichen Gruppen.

Aus den Erfahrungen anderer Forschungsgruppen lassen sich mit Hilfe der 2D Strain Echokardiografie sehr frühe subklinische Veränderungen der Herzmuskelkontraktilität zum Beispiel bei Patienten mit Kardiomyopathie nachweisen(202;203).

Die von uns gewonnenen Resultate lassen den Schluss zu, dass unter Nutzung einer hohen technischen Auflösung eine sichere Aussage über die im konventionellen 2D-Echokardiografie, im Gewebe Doppler Imaging und in der 2D Strain Echokardiografie getroffen werden können(204). Die nachgewiesenen negativen Effekte in der 2D Strain Echokardiografie hinsichtlich der zirkumferentiellen Kontraktilität der inferioren Wand sind Folge der durchgeführten Manipulationen wie Operation und adjuvante Therapien.

Eine genauere Aussage zu den Therapiegruppen lässt sich auf Grund der Gruppengrößen statistisch nicht treffen.

Die 2D Strain Echokardiografie stellt aber mit ihren technischen Möglichkeiten eine sehr gute Methode zur Messung kardiotoxischer Effekte im Rattenmodell dar. Zur Evaluation der Methode sind weitere Studienprotokolle notwendig.

5.6.3.Laboruntersuchung

Neben den oben diskutierten kardiotoxischen Nebenwirkungen multimodaler Therapien spielt im klinischen Alltag die Zytotoxizität mit Myelodepression durch Zytostatika eine erhebliche Rolle für das perioperative Auskommen der Patienten. Der Einfluss von onkologischen Therapieansätzen auf die Hämatopoese der Patienten stellt oft einen limitierenden Faktor für die Behandlung dar. So müssen unter Beobachtung der Parameter die Dosen der Zytostatika reduziert oder die Abstände der Chemotherapiezyklen verlängert werden(205-207).

Zur Analyse des Einflusses der Therapie auf die Blutbildung bzw. einer Myelodepression wurde bei den Tieren im perioperativen Verlauf eine Blutbildbestimmung durchgeführt. Zur näheren Bestimmung wurden der Hb Wert sowie die Leukozytenzahl als wichtige Marker der Hämatopoese herangezogen.

Eine Reihe von Analysen im klinischen Alltag beschäftigt sich mit dem hämatopoetischen System unter zytostatischer Therapie(109;206;208). Auch in verschiedenen tier- und zellexperimentellen Untersuchungen ist die Hämatopoese und Leukopoese Zielkriterium in unterschiedlichem Studiendesign(209-211).

5.6.3.1. Hämoglobin

Bis zu 75% der Tumorpatienten leiden im Verlauf ihrer Erkrankung entweder bedingt durch den Tumor selbst oder die erfolgte Therapie wie Operation, Chemotherapie oder Bestrahlung an einer zumindest zeitweisen Anämie. Die Anämie beeinflusst zu diesem Zeitpunkt die Lebensqualität der Patienten erheblich(109).

Neben verschiedenen klinischen Untersuchungen lassen sich in der Literatur eine Reihe von Tiermodellen zur Hämatopoese unter dem Einsatz zytostatischer Medikamente, aber auch in anderen Untersuchungsansätzen, wie bei Schockmodellen oder bei Entzündungsprozessen finden(194;207;209;212;213).

In den Chemotherapie assoziierten Modellen kommt es durch die Knochenmarksdepression der Medikamente zum Hb Abfall über etwa 3 Tage nach Therapie mit anschließender Erholung bei zeitweise überschießender Reaktion mit Erhöhung der Werte über den Ausgangswert. Dieses von Woo et al. in seiner Untersuchung beschriebene Verhalten des Hb Wertes bei platinhaltigen Zytostatika können wir auch in unserer Untersuchung nachvollziehen(213).

Alle Therapiegruppen verzeichnen nach der Therapie einen Abfall des HB Wertes am 3. postoperativen Tag mit einer gewissen Erholung zum 7. postoperativen Tag hin. In keiner Therapiegruppe liegen die Werte allerdings über dem Ausgangswert des Hämoglobins im Verlauf. Die Gruppen G4 und G5 verzeichnen sogar einen geringen weiteren Abfall.

Das Studienprotokoll sah keine weiteren Kontrollen im Verlauf vor, ebenso sind die Abstände der Blutentnahmen relativ groß. Um eine exakte Aussage über den Verlauf zu erhalten, sind die Blutentnahmen in kürzeren Abständen notwendig und wahrscheinlich über einen längeren Zeitraum.

Auf Grund der nicht unerheblichen Belastungen der Tiere durch das Gesamtprotokoll ist die Realisierung dieser Untersuchung mit wiederholten Kurznarkosen schwierig. Ein Tier verstarb bei einer solchen Narkose.

Neben der möglichen toxischen Wirkung der adjuvant verwendeten Therapien muss der ausgedehnte operative Eingriff mit in Betracht gezogen werden. Im Kleintiermodell sind schon kleinste Blutverluste erheblich bei einem durchschnittlichen Blutvolumen von ca. 10ml der Ratte. Ein signifikanter Unterschied im postoperativen Verlauf zwischen der ausschließlich operierten

Gruppe G2 und den zusätzlich behandelten Tieren G3-G6 zeigt sich nicht, bis auf die oben angegebene Tendenz.

Untersuchungen auf den Einfluss der Hämatopoese durch die Anwendung von Taurolidin gibt es nur aus der eigenen Klinik bezüglich des weißen Blutbildes. Braumann et al. können dabei keine Veränderungen unter der Therapie mit Taurolidin nachweisen(214). Andere vergleichbare Studien lassen sich unseres Wissens in der gegenwärtigen Literatur nicht finden.

Mit der Untersuchung des Blutbildes im perioperativen Verlauf lassen sich Unterschiede in den einzelnen Therapiegruppen detektieren. Auf Grund des Studiendesigns und der Gruppengröße ist ein statistisch nachweisbarer Unterschied nicht zu finden.

5.6.3.2. Leukozyten

Die therapieassoziierte Myelodepression onkologischer Therapien stellt im klinischen Alltag einen häufigen limitierenden Faktor der Behandlung dar. In verschiedenen klinischen Untersuchungen wurde auf die Gefahren der Neutropenie bis hin zum neutropenen Fieber für das Auskommen der Patienten verwiesen. Diese Nebenwirkungen vor allem zytostatischer Therapien führen zur Dosisreduktion oder zum Therapieaufschub, wodurch der Therapieerfolg gefährdet werden könnte. In dem von uns verwendeten Ansatz wird der Einfluss der unterschiedlichen Therapieoptionen auf die Hämatopoese untersucht.

Zu dem von uns verwendeten Ansatz lässt sich nur wenig vergleichende experimentelle Literatur finden. Friberg et al. haben im Tiermodell den Einfluss einer wiederholten 5FU Gabe auf das hämatopoetische System untersucht und in Zusammenfassung weiterer Untersuchungen unterschiedliche Modelle für die zu erwartende Myelodepression zytostatischer Behandlungen entwickelt(210;215). Aus diesen Modellen lassen sich nach Auffassung der Autoren Aussagen zur Planung von Studien mit Zytostatika hinsichtlich der zu erwartenden Myelodepression bei Patienten treffen. Gleichzeitig kann somit der optimale Zeitpunkt der Parameterbestimmung in Abhängigkeit der Dosisgabe bzw. Dosiswiederholung vorhergesagt werden. Diese mechanistischen Modelle bedürfen aber einer weiteren klinischen Evaluation.

Die Bestimmungszeitpunkte unserer Untersuchung ergaben sich aus den empirischen Erfahrungen der Klinik und den Möglichkeiten beim Kleintiermodell.

Die einzige tierexperimentelle Arbeit der letzten Jahre, die sich mit der Leukopoese bei intraperitonealer Applikation eines Medikamentes beschäftigt, zeigt, dass die i.p. Gabe von Taurolidin keinen Einfluss auf die Blutbildung der weißen Zellreihen besitzt(214). Dieses Ergebnis kann durch unsere Untersuchung in vollem Umfang bestätigt werden. Auch in unserer Untersuchung findet sich in der Taurolidingruppe keine signifikante Veränderung der Leukozytenzahl im perioperativen Verlauf im Vergleich zur Kontrollgruppe bei zusätzlicher Belastung durch einen operativen Eingriff.

Auch die Therapiegruppe mit zusätzlicher HIPEC mit Mitomycin C hat hinsichtlich der Leukozytenzahl keine signifikante Veränderung zu der Kontrollgruppe oder der nur operierten Gruppe im Verlauf. In klinischen Untersuchungen bei HIPEC Patienten sind postoperative zytotoxische Effekte häufiger nachweisbar und

werden in der Literatur auch in Zusammenhang mit der allgemeinen hohen Morbidität des Eingriffs gebracht(161;216-218).

In unserer Untersuchung ist bei der HIPEC Gruppe mit Gemcitabine ein deutlich signifikanter Abfall der Leukozytenzahl im perioperativen Verlauf zu verzeichnen. Andere klinische Untersuchungen konnten den myelodepressiven Effekt von Gemcitabine zeigen(106). Im Unterschied zu Mitomycin C besitzt Gemcitabine nur eine kleine Molekülgröße, wird so wahrscheinlich schnell aus der Peritonealhöhle abtransportiert und hat erreicht eine hohe systemische Konzentration. Untersuchungen zu dieser Fragestellung lassen sich für Gemcitabine gegenwärtig nicht finden, da dieses Medikament zurzeit nicht im Focus des Interesses zur intraperitonealen Applikation steht. Schlussfolgernd sollte auf Grund dieser doch erheblichen Nebenwirkung bei der Therapie die hypertherme intraperitoneale Applikation skeptisch betrachtet werden.

Die PDT Gruppe verzeichnet keine signifikanten Veränderungen in der Leukozytenzahl und hat somit bei lokalen intraperitonealen Applikationen keinen Einfluss auf die Leukopoese. Vergleichende experimentelle Untersuchungen lassen sich kaum finden. Im Gegensatz zu unseren experimentellen Ergebnissen konnten Lynch et al. wie auch die Gruppe von Jolles in ihren Untersuchungen eine systemische Immunsuppression bei peritonealer PDT nachweisen;(187;219). Auffällig waren andererseits Leukozytosen auf Grund von Infektionskomplikationen bis hin zu Capillary Leak Syndrom oder Perforationen(127;220)

Die Untersuchung des Blutbildes im perioperativen Verlauf stellt ein sicheres und gutes Verfahren zur Analyse der Zytotoxizität von multimodalen Verfahren dar. Es lässt sich sicher wiederholen in gegebenen Zeitabständen. Bei den Blutentnahmen lassen sich heute auch aus kleinen Blutmengen wichtige Parameter evaluieren. So können die Analyse von Immunglobulinen oder anderer Immunparameter noch exaktere Aussagen über den Einfluss der durchgeführten Therapien liefern. Dies bedarf weiterer neuer Untersuchungen.

6. Schlussfolgerung

Mit der erfolgreichen Durchführung des multimodalen Therapieregimes ist der Beweis der Machbarkeit wie auch zu den Effekten komplexer multimodaler Therapien bei Peritonealkarzinose basierend auf einem Kolonkarzinom im Rattenmodell geführt.

Der in der Untersuchung entwickelte ePCI erscheint als eine gute Möglichkeit zur Darstellung des Ausmaßes einer Peritonealkarzinose im Kleintiermodell und sollte in weiteren Studien evaluiert werden.

Dieses Modell dient damit als Voraussetzung zur Testung weiterer Therapieoptionen, unterschiedlicher Zytostatika bei HIPEC oder auch zur Kontrolle der Belastung einzelner Therapieoptionen, die bisher im Tiermodell nicht möglich waren.

Die HIPEC mit Mitomycin C stellt in der Versuchsanordnung das wirksamste multimodale Konzept der Behandlung dar und zeigt eine signifikante Verbesserung des therapeutischen Ergebnisses. Neue Konzepte oder andere Medikamente müssen sich an dieser Anordnung in ihrer Wirksamkeit aber auch ihrer Toxizität messen lassen.

Die Übertragbarkeit von diesen Möglichkeiten in den klinischen Alltag bleibt wie bei vielen anderen Fragestellungen offen.

7. Aussichten

Die Behandlung der Peritonealkarzinose ist in eine neue Phase eingetreten. Neben den Fortschritten im klinischen Alltag werden neue Therapieoptionen im Vorhinein durch adaptierte Tiermodelle zu evaluieren sein. Einzelne Therapieabschnitte oder auch Kontrollen der Therapien hinsichtlich ihrer Toxizitäten wie Kardiotoxizität sind mit den neuen technischen Möglichkeiten genauer zu analysieren. Die bisher auf empirischen Erfahrungen eingesetzten Therapiekonzepte sollten nun mit Einführung entsprechender Tiermodelle auch bei nur fraglicher vollständiger Übertragbarkeit in den klinischen Alltag vorher getestet werden. In ersten klinischen Tests haben platinhaltige Zytostatika einen deutlichen Effekt in der Behandlung kolorektaler Karzinome. Mit dem vorliegenden Modell gilt es, diese Effekte in der Verwendung eines multimodalen Konzeptes mit den möglichen Fragestellungen zur Wirksamkeit aber auch der Toxizität zu testen.

8. Zusammenfassung

Die Peritonealkarzinose stellt unter den gegenwärtigen Standardtherapiebedingungen einen limitierenden Faktor hinsichtlich des Überlebens und der Lebensqualität der betroffenen Patienten dar.

Mit der Einführung neuer multimodaler Konzepte im Therapiemanagement der Erkrankung kann nach den vorliegenden Studien eine Verbesserung des Überlebens bei guter Lebensqualität erzielt werden.

Alle bisher vorliegenden Arbeiten basieren aber auf theoretischen Überlegungen und empirischen Erkenntnissen. Tierexperimentelle Ansätze werden gegenwärtig in verschiedenen Arbeitsgruppen entwickelt mit unterschiedlicher Fokussierung.

Mit der vorliegenden Arbeit ist es gelungen, ein multimodales Therapiekonzept bei Peritonealkarzinose im Kleintiermodell umzusetzen.

Es konnte bewiesen werden, dass eine zytoreduktive Operation bei Vorliegen einer Peritonealkarzinose erfolgreich im Rattenmodell durchgeführt werden kann.

Mit der Darstellung eines eigens adaptierten experimental Peritoneal Carcinomatosis Index (ePCI) zur Evaluation der Tumorlast bei Peritonealkarzinose im Kleintiermodell wird die Bedeutung eines Scoringsystems zur Vergleichbarkeit der Ergebnisse entwickelt und dargestellt.

Die angestrebten adjuvanten Therapieoptionen lassen sich im Tiermodell ebenfalls technisch in hoher Qualität und Reproduzierbarkeit realisieren.

Unterschiedliche zusätzliche intraoperative Therapiemaßnahmen neben der operativen Tumorreduktion wie HIPEC mit Mitomycin C, HIPEC mit Gemcitabine, Taurolidinspülung oder adjuvante Photodynamische Therapie zeigen im Vergleich zur Kontrollgruppe einen signifikanten Einfluss auf das Therapieergebnis hinsichtlich der Tumormasse und des ePCI. Innerhalb der Gruppen wird ausschließlich durch eine adjuvante HIPEC mit Mitomycin signifikante geringere Tumorlast zum Abschluss des Versuchs erzielt.

Die anderen Therapiegruppen zeigen untereinander keine signifikanten Unterschiede in den Zielkriterien.

Die perioperative Mortalität und Toxizität gemessen an echokardiografischen Myokardveränderungen, dem Tierverhalten, dem Gewichtsverlauf und der Untersuchung des Hämoglobins und der Leukozytenzahl zeigen differenzierte Veränderungen innerhalb der Gruppen.

Dabei stellen sich die untersuchten Marker bis auf das Tierverhalten als Möglichkeit zur Überwachung der Toxizität eines komplexen Therapieregimes dar.

9. Abkürzungsverzeichnis

A.	Arterie
Aa.	Arterien
Abb.	Abbildung
ANOVA	Analysis of Varianz
C	Celsius
CO ₂	Kohlendioxid
cm	Zentimeter
dl	Deziliter
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EF	Ejektionsfraktion
FS	Fractional shortening
ePCI	experimental Peritoneal Carcinomatosis Index
g	Gramm
G	Gruppe
h	Stunde
Hb	Hämoglobin
HIPEC	Hypertherme Intraperitoneale Perioperative Chemotherapie
i.p.	intraperitoneal
Kap.	Kapitel
Kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KO	Körperoberfläche
l	Liter
Leuco	Leukozyten
LVEDD	Linksventrikulärer Enddiastolischer Diameter
LVESD	Linksventrikulärer Systolischer Diameter

m ⁻¹	pro Minute (für Herzschläge pro Minute)
m ²	Quadratmeter
µm	Mikrometer
ml	Milliliter
mg	Milligramm
mm	Millimeter
MMC	Mitomycin C
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
nl ⁻¹	pro Nanoliter
PBS	phosphate buffered saline
PDT	Photodynamische Therapie
R	Resektion
RNS	Ribonukleinsäure
TAPSE	Tricuspidal Anular Plane Systolic Excursion
Tab.	Tabelle
UV	Ultraviolett
UKCCCR	United Kingdom Coordinating Committee on Cancer Research (Tierschutzkommission)
V.	Vena
vs	versus

10. Abbildungen und Tabellen

10.1. Abbildungen

	Seite
Abb. 1:	Zeitstrahl für den Versuchsablauf 21
Abb. 2,3:	Tumorzellimplantation subperitoneal über Minilaparotomie im Oberbauch 24
Abb. 4:	Übersicht Erstellung Tumorknotenanzahl und ePCI nach Untersucher 27
Abb. 5-8:	Operatives Tumordebulking mit partieller Peritonektomie und Entfernung von Tumorknoten am Dünndarmperitoneum 28
Abb 9:	Versuchsaufbau für Therapiegruppen G3- G5 30
Abb 10:	Versuchsaufbau PDT mit Dioden Laser Visula 31
Abb.11:	Resektionsstatus in Abhängigkeit der Tumorknotenanzahl 38
Abb.12:	Resektionsstatus in Zusammenhang mit dem ePCI zum Operationszeitpunkt 39
Abb.13:	Korrelation zwischen Anzahl der Tumorknoten und ePCI 40
Abb.14:	Tumormasse 21 Tage nach Behandlung; Mann Whitney-U Test zur Untersuchung der Unterschiede in den Gruppen 43
Abb.15:	Boxplots ePCI zum Untersuchungsende 45
Abb.16:	Gewichtsverlauf in Abhängigkeit der Randomisierungsgruppen 48

		Seite
Abb.17,18:	Pw Doppler des transmitralen Flow von apical und Gewebe Doppler mit Kalkulation der systolischen und diastolischen Beschleunigung des Basalsegments	51
Abb.19,20:	Boxplots Analyse der TAPSE und FS in der „control“ Gruppe (G1) und den „therapy“ Gruppen (G2-G6) vor (weiß) und nach (grau) Therapie	53
Abb.21:	M-Mode Darstellung über die „kurze Achse“ als Beispiel zur Bestimmung der linksventrikulären Dimensionen	54
Abb.22:	2D Strain Messung der radialen Deformation des anterior inferioren Wandabschnitts als Ausgangswert (Baseline) vor Therapie	57
Abb.23(A,B):	2D Strain Messung der zirkumferentiellen Deformation der anterioren und inferioren Wand als Baseline(A) und nach Therapie (B) mit Reduktion des maximalen Strain in der inferioren Wand	58
Abb.24,25:	Boxplots Analyse der radialen bzw. zirkumferentiellen 2D Strain Werte in der „control“ G1 und „therapy“ G2-G6 Gruppe, die weißen boxes vor, die grauen nach Therapie	59
Abb.26:	Boxplots zur Darstellung der Differenz der Hb Werte präoperativ (Baseline) zum 7. postoperativen Tag in den Randomisierungsgruppen	61
Abb.27:	Boxplots zur Darstellung der Differenz der Leukozytenzahl präoperativ (Baseline) zum 7. postoperativen Tag in den Randomisierungsgruppen	63

10.2. Tabellen

		Seite
Tab.1:	Tierverhalten mit Zuordnung eines Punktesystems in Anlehnung an UKCCCR	33
Tab.2:	Todesursachen und Randomisierungsgruppen	41
Tab.3:	Tumormasse und ePCI nach Randomisierungsgruppen	42
Tab.4:	Tumormasse zum Untersuchungsende: (Mittelwert und SD) nach erzielter Zytoreduktion während der Therapie	44
Tab.5:	ePCI Werte zum Untersuchungsende: (Mittelwert und SD) nach erzielter Zytoreduktion während der Therapie	46
Tab.6:	Zusammenfassung des Tierverhaltens in Anlehnung an UKCCCR im postoperativen Verlauf: Mittelwert und SD	47
Tab.7:	Gewichtsverläufe in den Randomisierungsgruppen	49
Tab.8:	Echokardiographische Basisdaten der Studientiere in den Randomisierungsgruppen	51
Tab.9:	Diastolische Funktionsparameter	54
Tab.10:	Radiale und zirkumferentielle 2D Strain Werte	56
Tab.11:	Hb Werte im perioperativen Verlauf	60
Tab.12:	Leukozytenzahl im perioperativen Verlauf	62

11. Literatur

1. Sampson J. Implantation Peritoneal Carcinomatosis of Ovarian Origin. *Am J Path* 1931; 7: 423-43.
2. Sadeghi B, Arvieux C, Glehen O, Beaujard AC, Rivoire M, Baulieux J, Fontaumard E, Brachet A, Caillot JL, Faure JL, Porcheron J, Peix JL, Francois Y, Vignal J, Gilly FN. Peritoneal Carcinomatosis From Non-Gynecologic Malignancies: Results of the EVOCAPE 1 Multicentric Prospective Study. *Cancer* 2000; 88(2): 358-63.
3. Chu DZ, Lang NP, Thompson C, Osteen PK, Westbrook KC. Peritoneal Carcinomatosis in Nongynecologic Malignancy. A Prospective Study of Prognostic Factors. *Cancer* 1989; 63(2): 364-7.
4. Sugarbaker PH. Management of Peritoneal Carcinomatosis. *Acta Med Austriaca* 1989; 16(3-4): 57-60.
5. Sugarbaker PH. Peritonectomy Procedures. *Surg Oncol Clin N Am* 2003; 12(3): 703-27, xiii.
6. Verwaal VJ, van RS, de BE, van Sloothen GW, van TH, Boot H, Zoetmulder FA. Randomized Trial of Cytoreduction and Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy Versus Systemic Chemotherapy and Palliative Surgery in Patients With Peritoneal Carcinomatosis of Colorectal Cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21(20): 3737-43.
7. Elias D, Blot F, El OA, Antoun S, Lasser P, Boige V, Rougier P, Ducreux M. Curative Treatment of Peritoneal Carcinomatosis Arising From Colorectal Cancer by Complete Resection and Intraperitoneal Chemotherapy. *Cancer* 2001; 92(1): 71-6.
8. Bünthe H. Bauchhöhle und Retroperitoneum in Chirurgie. Bünthe H. Urban und Schwarzenbach, 1240-1241. 1996.
Ref Type: Serial (Book, Monograph)
9. Willet CG, Tepper JE, Cohen AM, Orlow E, Welch CE. Failure Patterns Following Curative Resection of Colonic Carcinoma. *Surgery* 1984;(200): 685-90.
10. Schott A, Vogel I, Krueger U, Kalthoff H, Schreiber HW, Schmiegel W, Henne-Bruns D, Kremer B, Juhl H. Isolated Tumor Cells Are Frequently Detectable in the Peritoneal Cavity of Gastric and Colorectal Cancer Patients and Serve As a New Prognostic Marker. *Ann Surg* 1998; 227(3): 372-9.
11. Hansen E, Wolff N, Knuechel R, Ruschoff J, Hofstaedter F, Taeger K. Tumor Cells in Blood Shed From the Surgical Field. *Arch Surg* 1995; 130(4): 387-93.
12. Sugarbaker PH. Peritoneum As the First-Line of Defense in Carcinomatosis. *J Surg Oncol* 2007; 95(2): 93-6.
13. Brodsky JT, Cohen AM. Peritoneal Seeding Following Potentially Curative Resection of Colonic Carcinoma: Implications for Adjuvant Therapy. *Dis Colon Rectum* 1991; 34(8): 723-7.

14. Russel AH, Tong D, Dawson LE, Wisbeck W, Griffin TW. Adenocarcinoma of the Retroperitoneal Ascending End Descending Colon: Sites of Initial Dissemination and Clinical Patterns of Recurrence Following Surgery Alone. *Int Radiat Oncol Biol Phys* 2009;(9): -361.
15. Dawson LE, Russell AH, Tong D, Wisbeck WM. Adenocarcinoma of the Sigmoid Colon: Sites of Initial Dissemination and Clinical Patterns of Recurrence Following Surgery Alone. *J Surg Oncol* 1983; 22(2): 95-9.
16. Shepherd NA, Baxter KJ, Love SB. The Prognostic Importance of Peritoneal Involvement in Colonic Cancer: a Prospective Evaluation. *Gastroenterology* 1997; 112(4): 1096-102.
17. Compton C, Fenoglio-Preiser CM, Pettigrew N, Fielding LP. American Joint Committee on Cancer Prognostic Factors Consensus Conference: Colorectal Working Group. *Cancer* 2000; 88(7): 1739-57.
18. Sugarbaker PH, Welch LS, Mohamed F, Glehen O. A Review of Peritoneal Mesothelioma at the Washington Cancer Institute. *Surg Oncol Clin N Am* 2003; 12(3): 605-21, xi.
19. Loggie BW, Fleming RA, McQuellon RP, Russell GB, Geisinger KR, Levine EA. Prospective Trial for the Treatment of Malignant Peritoneal Mesothelioma. *Am Surg* 2001; 67(10): 999-1003.
20. Kerrigan SA, Turnnir RT, Clement PB, Young RH, Churg A. Diffuse Malignant Epithelial Mesotheliomas of the Peritoneum in Women: a Clinicopathologic Study of 25 Patients. *Cancer* 2002; 94(2): 378-85.
21. Markman M, Kelsen D. Efficacy of Cisplatin-Based Intraperitoneal Chemotherapy As Treatment of Malignant Peritoneal Mesothelioma. *J Cancer Res Clin Oncol* 1992; 118(7): 547-50.
22. Eltabbakh GH, Piver MS, Hempling RE, Recio FO, Intengen ME. Clinical Picture, Response to Therapy, and Survival of Women With Diffuse Malignant Peritoneal Mesothelioma. *J Surg Oncol* 1999; 70(1): 6-12.
23. Cintron JR, Pearl RK. Colorectal Cancer and Peritoneal Carcinomatosis. *Semin Surg Oncol* 1996; 12(4): 267-78.
24. Verwaal VJ, Zoetmulder FA. Follow-Up of Patients Treated by Cytoreduction and Chemotherapy for Peritoneal Carcinomatosis of Colorectal Origin. *Eur J Surg Oncol* 2004; 30(3): 280-5.
25. Kohne CH, Cunningham D, Di CF, Glimelius B, Blijham G, Aranda E, Scheithauer W, Rougier P, Palmer M, Wils J, Baron B, Pignatti F, Schoffski P, Micheel S, Hecker H. Clinical Determinants of Survival in Patients With 5-Fluorouracil-Based Treatment for Metastatic Colorectal Cancer: Results of a Multivariate Analysis of 3825 Patients. *Ann Oncol* 2002; 13(2): 308-17.
26. Mitry E, Douillard JY, Van CE, Cunningham D, Magherini E, Mery-Mignard D, Awad L, Rougier P. Predictive Factors of Survival in Patients With Advanced Colorectal Cancer: an Individual Data Analysis of 602 Patients Included in Irinotecan Phase III Trials. *Ann Oncol* 2004; 15(7): 1013-7.

27. Yan TD, Black D, Savady R, Sugarbaker PH. A Systematic Review on the Efficacy of Cytoreductive Surgery and Perioperative Intraperitoneal Chemotherapy for Pseudomyxoma Peritonei. *Ann Surg Oncol* 2007; 14(2): 484-92.
28. Yan TD, Welch L, Black D, Sugarbaker PH. A Systematic Review on the Efficacy of Cytoreductive Surgery Combined With Perioperative Intraperitoneal Chemotherapy for Diffuse Malignancy Peritoneal Mesothelioma. *Ann Oncol* 2007; 18(5): 827-34.
29. Yan TD, Black D, Sugarbaker PH, Zhu J, Yonemura Y, Petrou G, Morris DL. A Systematic Review and Meta-Analysis of the Randomized Controlled Trials on Adjuvant Intraperitoneal Chemotherapy for Resectable Gastric Cancer. *Ann Surg Oncol* 2007; 14(10): 2702-13.
30. Witkamp AJ, de BE, Kaag MM, Boot H, Beijnen JH, van Slooten GW, van CF, Zoetmulder FA. Extensive Cytoreductive Surgery Followed by Intra-Operative Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy With Mitomycin-C in Patients With Peritoneal Carcinomatosis of Colorectal Origin. *Eur J Cancer* 2001; 37(8): 979-84.
31. Verwaal VJ, van RS, Witkamp A, Boot H, van SG, Zoetmulder FA. Long-Term Survival of Peritoneal Carcinomatosis of Colorectal Origin. *Ann Surg Oncol* 2005; 12(1): 65-71.
32. Sugarbaker PH. Review of a Personal Experience in the Management of Carcinomatosis and Sarcomatosis. *Jpn J Clin Oncol* 2001; 31(12): 573-83.
33. Sugarbaker PH. Cytoreductive Surgery and Peri-Operative Intraperitoneal Chemotherapy As a Curative Approach to Pseudomyxoma Peritonei Syndrome. *Eur J Surg Oncol* 2001; 27(3): 239-43.
34. Rossi CR, Deraco M, De SM, Mocellin S, Pilati P, Foletto M, Cavaliere F, Kusamura S, Gronchi A, Lise M. Hyperthermic Intraperitoneal Intraoperative Chemotherapy After Cytoreductive Surgery for the Treatment of Abdominal Sarcomatosis: Clinical Outcome and Prognostic Factors in 60 Consecutive Patients. *Cancer* 2004; 100(9): 1943-50.
35. McQuellon RP, Loggie BW, Lehman AB, Russell GB, Fleming RA, Shen P, Levine EA. Long-Term Survivorship and Quality of Life After Cytoreductive Surgery Plus Intraperitoneal Hyperthermic Chemotherapy for Peritoneal Carcinomatosis. *Ann Surg Oncol* 2003; 10(2): 155-62.
36. Braumann C, Ordemann J, Kilian M, Wenger FA, Jacobi CA. Local and Systemic Chemotherapy With Taurolidine and Taurolidine/Heparin in Colon Cancer-Bearing Rats Undergoing Laparotomy. *Clin Exp Metastasis* 2003; 20(5): 387-94.
37. Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, Jori G, Kessel D, Korbelik M, Moan J, Peng Q. Photodynamic Therapy. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90(12): 889-905.
38. Jacobi CA, Peter FJ, Wenger FA, Ordemann J, Muller JM. New Therapeutic Strategies to Avoid Intra- and Extraperitoneal Metastases During Laparoscopy: Results of a Tumor Model in the Rat. *Dig Surg* 1999; 16(5): 393-9.

39. Ridwelski K, Meyer F, Hribaschek A, Kasper U, Lippert H. Intraoperative and Early Postoperative Chemotherapy into the Abdominal Cavity Using Gemcitabine May Prevent Postoperative Occurrence of Peritoneal Carcinomatosis. *J Surg Oncol* 2002; 79(1): 10-6.
40. Bijelic L, Yan TD, Sugarbaker PH. Failure Analysis of Recurrent Disease Following Complete Cytoreduction and Perioperative Intraperitoneal Chemotherapy in Patients With Peritoneal Carcinomatosis From Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol* 2007; 14(8): 2281-8.
41. Bijelic L, Sugarbaker PH. Cytoreduction of the Small Bowel Surfaces. *J Surg Oncol* 2008; 97(2): 176-9.
42. Elias D, Pocard M, Sideris L, Ede C, Ducreux M, Boige V, Lasser P. Preliminary Results of Intraperitoneal Chemohyperthermia With Oxaliplatin in Peritoneal Carcinomatosis of Colorectal Origin. *Br J Surg* 2004; 91(4): 455-6.
43. Esquivel J, Sugarbaker PH. Second-Look Surgery in Patients With Peritoneal Dissemination From Appendiceal Malignancy: Analysis of Prognostic Factors in 98 Patients. *Ann Surg* 2001; 234(2): 198-205.
44. Sugarbaker PH, Jablonski KA. Prognostic Features of 51 Colorectal and 130 Appendiceal Cancer Patients With Peritoneal Carcinomatosis Treated by Cytoreductive Surgery and Intraperitoneal Chemotherapy. *Ann Surg* 1995; 221(2): 124-32.
45. Verwaal VJ, Boot H, Aleman BM, van TH, Zoetmulder FA. Recurrences After Peritoneal Carcinomatosis of Colorectal Origin Treated by Cytoreduction and Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy: Location, Treatment, and Outcome. *Ann Surg Oncol* 2004; 11(4): 375-9.
46. Yan TD, Black D, Savady R, Sugarbaker PH. Systematic Review on the Efficacy of Cytoreductive Surgery Combined With Perioperative Intraperitoneal Chemotherapy for Peritoneal Carcinomatosis From Colorectal Carcinoma. *J Clin Oncol* 2006; 24(24): 4011-9.
47. Verwaal VJ, van TH, van RS, Zoetmulder FA. Predicting the Survival of Patients With Peritoneal Carcinomatosis of Colorectal Origin Treated by Aggressive Cytoreduction and Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy. *Br J Surg* 2004; 91(6): 739-46.
48. Japanese research society for gastric cancer. The General Rules for the Gastric Cancer Study in Surgery and Pathology. *Japn J Surg* 1981; 11: 127-9.
49. Jacquet P, Sugarbaker P. Current Methodologies for Clinical Assessment of Patients With Peritoneal Carcinomatosis. *J Exp Clin Cancer Res* 1996; 15: 49-58.
50. Gilly FN, Carry PY, Sayag AC, Brachet A, Panteix G, Salle B, Bienvenu J, Burgard G, Guibert B, Banssillon V, . Regional Chemotherapy (With Mitomycin C) and Intra-Operative Hyperthermia for Digestive Cancers With Peritoneal Carcinomatosis. *Hepatogastroenterology* 1994; 41(2): 124-9.
51. Gilly FN, Cotte E, Brigand C, Monneuse O, Beaujard AC, Freyer G, Glehen O. Quantitative Prognostic Indices in Peritoneal Carcinomatosis. *Eur J Surg Oncol* 2006; 32(6): 597-601.

52. Kubler S, Jahne J. Staging and Scoring of Peritoneal Carcinomatosis. *Cancer Treat Res* 2007; 134: 231-46.
53. Monneuse O, Mestrallet JP, Quash G, Gilly FN, Glehen O. Intraperitoneal Treatment With Dimethylthioampal (DIMATE) Combined With Surgical Debulking Is Effective for Experimental Peritoneal Carcinomatosis in a Rat Model. *J Gastrointest Surg* 2005; 9(6): 769-74.
54. Aarts F, Koppe MJ, Hendriks T, van Eerd JE, Oyen WJ, Boerman OC, Bleichrodt RP. Timing of Adjuvant Radioimmunotherapy After Cytoreductive Surgery in Experimental Peritoneal Carcinomatosis of Colorectal Origin. *Ann Surg Oncol* 2007; 14(2): 533-40.
55. Aarts F, Hendriks T, Boerman OC, Koppe MJ, Oyen WJ, Bleichrodt RP. A Comparison Between Radioimmunotherapy and Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy for the Treatment of Peritoneal Carcinomatosis of Colonic Origin in Rats. *Ann Surg Oncol* 2007; 14(11): 3274-82.
56. Hornback NB. Historical Aspects of Hyperthermia in Cancer Therapy. *Radiol Clin North Am* 1989; 27(3): 481-8.
57. Bruns P. Die Heilwirkung Des Erysipels Auf Geschwulste. *Beitr Klin Chir* 1887; 3: 443-66.
58. Busch W. Über Den Einfluss Weicher Heftigeren Erysipelen Zuweilen Auf Organisierte Neubildungen. *Ausuken Verhandl Rheinisch- Westfäl Akad Wiss Nat Lng Wirtschaftswiss Votr* 1866; 23: 28-30.
59. Coley WB. The Treatment of Malignant Tumors by Repeated Inoculations of Erysipelas- With a Report of Ten Original Cases. *Am J Med Sci* 1893; 105: 487-511.
60. Spratt JS, Adcock RA, Muskovin M, Sherrill W, McKeown J. Clinical Delivery System for Intraperitoneal Hyperthermic Chemotherapy. *Cancer Res* 1980; 40(2): 256-60.
61. Cho JA, Park H, Kim HK, Lim EH, Seo SW, Choi JS, Lee KW. Hyperthermia-Treated Mesenchymal Stem Cells Exert Antitumor Effects on Human Carcinoma Cell Line. *Cancer* 2009; 115(2): 311-23.
62. Schwarzbach MH, Hohenberger P. Current Concepts in the Management of Retroperitoneal Soft Tissue Sarcoma. *Recent Results Cancer Res* 2009; 179: 301-19.
63. Tilly W, Gellermann J, Graf R, Hildebrandt B, Weissbach L, Budach V, Felix R, Wust P. Regional Hyperthermia in Conjunction With Definitive Radiotherapy Against Recurrent or Locally Advanced Prostate Cancer T3 PN0 M0. *Strahlenther Onkol* 2005; 181(1): 35-41.
64. Nielsen OS, Horsman M, Overgaard J. A Future for Hyperthermia in Cancer Treatment? *Eur J Cancer* 2001; 37(13): 1587-9.
65. Szasz A, Vincze G. Dose Concept of Oncological Hyperthermia: Heat-Equation Considering the Cell Destruction. *J Cancer Res Ther* 2006; 2(4): 171-81.
66. Andocs G, Renner H, Balogh L, Fonyad L, Jakab C, Szasz A. Strong Synergy of Heat and Modulated Electromagnetic Field in Tumor Cell Killing. *Strahlenther Onkol* 2009; 185(2): 120-6.

67. Fiorentini G, Szasz A. Hyperthermia Today: Electric Energy, a New Opportunity in Cancer Treatment. *J Cancer Res Ther* 2006; 2(2): 41-6.
68. Dikomey E, Muller C, Jung H. Effect of Chronic Thermotolerance on Thermosensitization in Chinese Hamster Ovary Cells Studied at Various Temperatures. *Int J Hyperthermia* 1991; 7(5): 741-8.
69. Mills MD, Meyn RE. Effects of Hyperthermia on Repair of Radiation-Induced DNA Strand Breaks. *Radiat Res* 1981; 87(2): 314-28.
70. Mills MD, Meyn RE. Hyperthermic Potentiation of Unrejoined DNA Strand Breaks Following Irradiation. *Radiat Res* 1983; 95(2): 327-38.
71. Dikomey E, Jung H. Correlation Between Thermal Radiosensitization and Heat-Induced Loss of DNA Polymerase Beta Activity in CHO Cells. *Int J Radiat Biol* 1993; 63(2): 215-21.
72. Feldmann HJ, Molls M, Fuller J, Stuben G, Sack H. Changes in Oxygenation Patterns of Locally Advanced Recurrent Tumors Under Thermoradiotherapy. *Adv Exp Med Biol* 1994; 345: 479-83.
73. Storm FK. Clinical Hyperthermia and Chemotherapy. *Radiol Clin North Am* 1989; 27(3): 621-7.
74. Stewart A.D., Bugshaw M., Corry P. Hyperthermia As a Treatment of Cancer. *Cancer Treat Symp* 1984; 1: 132-5.
75. Wiedemann GJ, Siemens HJ, Mentzel M, Biersack A, Wossmann W, Knocks D, Weiss C, Wagner T. Effects of Temperature on the Therapeutic Efficacy and Pharmacokinetics of Ifosfamide. *Cancer Res* 1993; 53(18): 4268-72.
76. van RS, Mathot RA, Sparidans RW, Beijnen JH, Verwaal VJ, Zoetmulder FA. Population Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Mitomycin During Intraoperative Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy. *Clin Pharmacokinet* 2004; 43(2): 131-43.
77. Sugarbaker PH, Stuart OA, Carmignani CP. Pharmacokinetic Changes Induced by the Volume of Chemotherapy Solution in Patients Treated With Hyperthermic Intraperitoneal Mitomycin C. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006; 57(5): 703-8.
78. Sugarbaker PH. Laboratory and Clinical Basis for Hyperthermia As a Component of Intracavitary Chemotherapy. *Int J Hyperthermia* 2007; 23(5): 431-42.
79. Sugarbaker PH, Stuart OA. Pharmacokinetic and Phase II Study of Heated Intraoperative Intraperitoneal Melphalan. *Cancer Chemother Pharmacol* 2007; 59(2): 151-5.
80. Raaphorst GP, Chabot P, Doja S, Wilkins D, Stewart D, Ng CE. Effect of Hyperthermia on Cisplatin Sensitivity in Human Glioma and Ovarian Carcinoma Cell Lines Resistant and Sensitive to Cisplatin Treatment. *Int J Hyperthermia* 1996; 12(2): 211-22.
81. Pestieau SR, Stuart OA, Chang D, Jacquet P, Sugarbaker PH. Pharmacokinetics of Intraperitoneal Gemcitabine in a Rat Model. *Tumori* 1998; 84(6): 706-11.

82. Pelz JO, Doerfer J, Hohenberger W, Meyer T. A New Survival Model for Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy (HIPEC) in Tumor-Bearing Rats in the Treatment of Peritoneal Carcinomatosis. *BMC Cancer* 2005; 5(1): 56.
83. Panteix G, Guillaumont M, Cherpin L, Cuichard J, Gilly FN, Carry PY, Sayag A, Salle B, Brachet A, Bienvenu J, . Study of the Pharmacokinetics of Mitomycin C in Humans During Intraperitoneal Chemohyperthermia With Special Mention of the Concentration in Local Tissues. *Oncology* 1993; 50(5): 366-70.
84. Los G, Sminia P, Wondergem J, Mutsaers PH, Havemen J, ten Bokkel HD, Smals O, Gonzalez-Gonzalez D, McVie JG. Optimisation of Intraperitoneal Cisplatin Therapy With Regional Hyperthermia in Rats. *Eur J Cancer* 1991; 27(4): 472-7.
85. Jacquet P, Averbach A, Stuart OA, Chang D, Sugarbaker PH. Hyperthermic Intraperitoneal Doxorubicin: Pharmacokinetics, Metabolism, and Tissue Distribution in a Rat Model. *Cancer Chemother Pharmacol* 1998; 41(2): 147-54.
86. Glehen O, Stuart OA, Mohamed F, Sugarbaker PH. Hyperthermia Modifies Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Intraperitoneal Melphalan in a Rat Model. *Cancer Chemother Pharmacol* 2004; 54(1): 79-84.
87. Dedrick RL. Theoretical and Experimental Bases of Intraperitoneal Chemotherapy. *Semin Oncol* 1985; 12(3 Suppl 4): 1-6.
88. Brenner DE. Intraperitoneal Chemotherapy: a Review. *J Clin Oncol* 1986; 4(7): 1135-47.
89. Los G, Mutsaers PH, van d, V, Baldew GS, de Graaf PW, McVie JG. Direct Diffusion of Cis-Diamminedichloroplatinum(II) in Intraperitoneal Rat Tumors After Intraperitoneal Chemotherapy: a Comparison With Systemic Chemotherapy. *Cancer Res* 1989; 49(12): 3380-4.
90. Pelz JO, Doerfer J, Dimmler A, Hohenberger W, Meyer T. Histological Response of Peritoneal Carcinomatosis After Hyperthermic Intraperitoneal Chemoperfusion (HIPEC) in Experimental Investigations. *BMC Cancer* 2006; 6: 162.
91. van RS, Verwaal VJ, Zoetmulder FA. Pharmacokinetics of Intraperitoneal Mitomycin C. *Surg Oncol Clin N Am* 2003; 12(3): 771-80.
92. Barlogie B, Corry PM, Drewinko B. In Vitro Thermochemotherapy of Human Colon Cancer Cells With Cis-Dichlorodiammineplatinum(II) and Mitomycin C. *Cancer Res* 1980; 40(4): 1165-8.
93. Witkamp AJ, de BE, Kaag MM, van Slooten GW, van CF, Zoetmulder FA. Extensive Surgical Cytoreduction and Intraoperative Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy in Patients With Pseudomyxoma Peritonei. *Br J Surg* 2001; 88(3): 458-63.
94. Sugarbaker PH, Averbach AM, Jacquet P, Stuart OA, Stephens AD. Hyperthermic Intraoperative Intraoperative Chemotherapy (HIIC) With Mitomycin C. *Surg Technol Int* 1996; 5: 245-9.

95. Sugarbaker PH, Chang D. Results of Treatment of 385 Patients With Peritoneal Surface Spread of Appendiceal Malignancy. *Ann Surg Oncol* 1999; 6(8): 727-31.
96. Benson AB, III. Therapy for Advanced Colorectal Cancer. *Semin Oncol* 1998; 25(5 Suppl 11): 2-11.
97. Sugarbaker PH, Stuart OA, Vidal-Jove J, Pessagno AM, DeBuijn EA. Pharmacokinetics of the Peritoneal-Plasma Barrier After Systemic Mitomycin C Administration. *Cancer Treat Res* 1996; 82: 41-52.
98. Zoetmulder FA, Verwaal VJ. Lessons Learnt From Clinical Trials in Peritoneal Surface Oncology: Colorectal Carcinomatosis. *Recent Results Cancer Res* 2007; 169: 99-103.
99. Sugarbaker PH. Peritoneal Surface Oncology: Review of a Personal Experience With Colorectal and Appendiceal Malignancy. *Tech Coloproctol* 2005; 9(2): 95-103.
100. Robertson JM, Shewach DS, Lawrence TS. Preclinical Studies of Chemotherapy and Radiation Therapy for Pancreatic Carcinoma. *Cancer* 1996; 78(3 Suppl): 674-9.
101. Sabbatini P, Aghajanian C, Leitao M, Venkatraman E, Anderson S, Dupont J, Dizon D, O'Flaherty C, Bloss J, Chi D, Spriggs D. Intraperitoneal Cisplatin With Intraperitoneal Gemcitabine in Patients With Epithelial Ovarian Cancer: Results of a Phase I/II Trial. *Clin Cancer Res* 2004; 10(9): 2962-7.
102. Carmichael J, Fink U, Russell RC, Spittle MF, Harris AL, Spiessi G, Blatter J. Phase II Study of Gemcitabine in Patients With Advanced Pancreatic Cancer. *Br J Cancer* 1996; 73(1): 101-5.
103. Carmichael J. The Role of Gemcitabine in the Treatment of Other Tumours. *Br J Cancer* 1998; 78 Suppl 3: 21-5.
104. Burris HA, III, Moore MJ, Andersen J, Green MR, Rothenberg ML, Modiano MR, Cripps MC, Portenoy RK, Storniolo AM, Tarassoff P, Nelson R, Dorr FA, Stephens CD, Von Hoff DD. Improvements in Survival and Clinical Benefit With Gemcitabine As First-Line Therapy for Patients With Advanced Pancreas Cancer: a Randomized Trial. *J Clin Oncol* 1997; 15(6): 2403-13.
105. Morgan RJ Jr, Synold TW, Xi B, Lim D, Shibata S, Margolin K, Schwarz RE, Leong L, Somlo G, Twadowski P, Yen Y, Chow W, Tetef M, Lin P, Paz B, Koczywas M, Wagman L, Chu D, Frankel P, Stalter S, Doroshov JH. Phase I Trial of Intraperitoneal Gemcitabine in the Treatment of Advanced Malignancies Primarily to the Peritoneal Cavity. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 1232-7.
106. Correale P, Cerrentani D, Clerici M, Messinese S, Marsili S, Petrioli R, Cetta F, Savelli V, Guarnieri A, Pinto E, Giorgi G, Francini G. Gemcitabine (GEM), 5-Fluorouracil (5-FU) and Folinic Acid (FA) in Patients With Different Gastroenteric Malignancies. *J Chemotherapy* 2004; 16: 206-10.

107. Correale P, Messinese S, Caraglia M, Marsili S, Piccolomini A, Petrioli R, Ceciari F, Micheli L, Nencini C, Neri A, Vuolo G, Guarnieri A, Abbruzzese A, Prete SD, Giorgi G, Francini G. A Novel Biweekly Multidrug Regimen of Gemcitabine, Oxaliplatin, 5-Fluorouracil (5-FU) and Folic Acid (FA) in Pretreated Patients With Advanced Colorectal Carcinoma. *Br J Cancer* 2004; 4(90): 1710-4.
108. Hribaschek A, Pross M, Ridwelski K, Meyer F, Fenske A, Kruger S, Lippert H. [Five Cytostatic Substances in Animal Studies for Prevention and Treatment of Experimentally Induced Peritoneal Carcinomatosis]. *Zentralbl Chir* 2004; 129(4): 328-34.
109. Ohguri T, Imada H, Yahara K, Narisada H, Morioka T, Nakano K, Korogi Y. Concurrent Chemoradiotherapy With Gemcitabine Plus Regional Hyperthermia for Locally Advanced Pancreatic Carcinoma: Initial Experience. *Radiat Med* 2008; 26(10): 587-96.
110. Brückner WL, Pfirrmann RW. Behandlungsschema bei schwerer diffuser Peritonitis. Kombinierte lokale und systemische Behandlung. Brückner WL, Pfirrmann RW, (HRSG) (eds) *Taurolin- Ein neues Konzept zur antimikrobiellen Chemotherapie chirurgischer Infektionen*. München-Wien- Baltimore: Urban & Schwarzenberg, 1985, 313-4.
111. Staubach KH. Adjuvant Therapy of Peritonitis With Taurolidine. Modulation of Mediator Liberation. *Langenbecks Arch Chir* 1997; 382: 26-30.
112. Pfirrmann RW. Taurolin in Der Anwendung Bei Chirurgischen Infektionen. *Chir Gastroenterol* 1991; 6: 131-41.
113. McCourt M, Wang JH, Sookhai S, Redmond HP. Taurolidine Inhibits Tumor Cell Growth in Vitro and in Vivo. *Ann Surg Oncol* 2000; 7(9): 685-91.
114. Opitz I, van d, V, Witte N, Braumann C, Mueller JM, Jacobi CA. Instillation of Taurolidine/Heparin After Laparotomy Reduces Intraperitoneal Tumour Growth in a Colon Cancer Rat Model. *Eur Surg Res* 2007; 39(3): 129-35.
115. Calabresi P, Goulette FA, Darnowski JW. Taurolidine: Cytotoxic and Mechanistic Evaluation of a Novel Antineoplastic Agent. *Cancer Res* 2001; 61(18): 6816-21.
116. Braumann C, Schoenbeck M, Menenakos C, Kilian M, Jacobi CA. Effects of Increasing Doses of a Bolus Injection and an Intravenous Long-Term Therapy of Taurolidine on Subcutaneous (Metastatic) Tumor Growth in Rats. *Clin Exp Metastasis* 2005; 22(1): 77-83.
117. Braumann C, Stuhldreier B, Bobrich E, Menenakos C, Rogalla S, Jacobi CA. High Doses of Taurolidine Inhibit Advanced Intraperitoneal Tumor Growth in Rats. *J Surg Res* 2005; 129(1): 129-35.
118. Jacobi CA, Sabat R, Ordemann J, Wenger F, Volk HD, Muller JM. [Peritoneal Instillation of Taurolidine and Heparin for Preventing Intraperitoneal Tumor Growth and Trocar Metastases in Laparoscopic Operations in the Rat Model]. *Langenbecks Arch Chir* 1997; 382(4 Suppl 1): S31-S36.

119. Veenhuizen RB, Ruevekamp MC, Oppelaar H, Ransdorp B, van d, V, Helmerhorst TJ, Kenemans P, Stewart FA. Intraperitoneal Photodynamic Therapy: Comparison of Red and Green Light Distribution and Toxicity. *Photochem Photobiol* 1997; 66(3): 389-95.
120. Aronoff BL. Lasers in Surgical Oncology: Part I. *Semin Surg Oncol* 1995; 11(4): 281-2.
121. Aronoff BL. Lasers: Reflections on Their Evolution. *J Surg Oncol* 1997; 64(1): 84-92.
122. Henderson BW, Dougherty TJ. How Does Photodynamic Therapy Work? *Photochem Photobiol* 1992; 55(1): 145-57.
123. Nowis D, Makowski M, Stoklosa T, Legat M, Issat T, Golab J. Direct Tumor Damage Mechanisms of Photodynamic Therapy. *Acta Biochim Pol* 2005; 52(2): 339-52.
124. Veenhuizen RB, Stewart FA. The Importance of Fluence Rate in Photodynamic Therapy: Is There a Parallel With Ionizing Radiation Dose-Rate Effects? *Radiother Oncol* 1995; 37(2): 131-5.
125. Fisher AM, Murphree AL, Gomer CJ. Clinical and Preclinical Photodynamic Therapy. *Lasers Surg Med* 1995; 17(1): 2-31.
126. Henderson BW, Waldow SM, Mang TS, Potter WR, Malone PB, Dougherty TJ. Tumor Destruction and Kinetics of Tumor Cell Death in Two Experimental Mouse Tumors Following Photodynamic Therapy. *Cancer Res* 1985; 45(2): 572-6.
127. Hendren SK, Hahn SM, Spitz FR, Bauer TW, Rubin SC, Zhu T, Glatstein E, Fraker DL. Phase II Trial of Debulking Surgery and Photodynamic Therapy for Disseminated Intraperitoneal Tumors. *Ann Surg Oncol* 2001; 8(1): 65-71.
128. Workman P, Balmain A, Hickman JA, McNally NJ, Rohas AM, Mitchison NA, Pierrepont CG, Raymond R, Rowlatt C, Stephens TC. UKCCCR Guidelines for the Welfare of Animals in Experimental Neoplasia. *Lab Anim* 1988; 22: 195-201.
129. Steller EP, Ottow RT, Matthews W. Recombinant Interleukin-2 and Adoptively Transferred Lymphokine-Activated Killer Cells in the Treatment of Experimental Peritoneal Carcinomatosis. *Surg Forum* 1985; 36: 390-2.
130. Jacobi CA, Ordemann J, Zieren HU, Muller JM. [Effect of Intra-Abdominal Pressure in Laparoscopy on Intraperitoneal Tumor Growth and Development of Trocar Metastases. An Animal Experiment Study in the Rat Model]. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd* 1998; 115(Suppl I): 529-33.
131. Pelz JO, Doerfer J, Decker M, Dimmler A, Hohenberger W, Meyer T. Hyperthermic Intraperitoneal Chemoperfusion (HIPEC) Decrease Wound Strength of Colonic Anastomosis in a Rat Model. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22(8): 941-7.
132. Balague C, Braumann C, Fuhrer K, Guski H, Jacobi CA. Validation of a New Experimental Model of Colon Cancer. *Surg Endosc* 2001; 15(8): 833-6.

133. Pestieau SR, Stuart OA, Sugarbaker PH. Multi-Targeted Antifolate (MTA): Pharmacokinetics of Intraperitoneal Administration in a Rat Model. *Eur J Surg Oncol* 2000; 26(7): 696-700.
134. Marchettini P, Stuart OA, Mohamed F, Yoo D, Sugarbaker PH. Docetaxel: Pharmacokinetics and Tissue Levels After Intraperitoneal and Intravenous Administration in a Rat Model. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002; 49(6): 499-503.
135. Mohamed F, Marchettini P, Stuart OA, Sugarbaker PH. Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Intraperitoneal Paclitaxel With Different Carrier Solutions. *Cancer Chemother Pharmacol* 2003; 52(5): 405-10.
136. Zoetmulder FA. Cancer Cell Seeding During Abdominal Surgery: Experimental Studies. *Cancer Treat Res* 1996; 82: 155-61.
137. Aarts F, Bleichrodt RP, de MB, Lomme R, Boerman OC, Hendriks T. The Effects of Adjuvant Experimental Radioimmunotherapy and Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy on Intestinal and Abdominal Healing After Cytoreductive Surgery for Peritoneal Carcinomatosis in the Rat. *Ann Surg Oncol* 2008; 15(11): 3299-307.
138. Deraco M, De SM, Rossi CR, Cavaliere F, Difilippo F, Scuderi S, Pilatti P, Kusamura S. An Italian Multicentric Phase II Study on Peritonectomy and Intra Peritoneal Hyperthermic Perfusion (IPHP) to Treat Patients With Peritoneal Mesothelioma. *J Exp Clin Cancer Res* 2003; 22(4 Suppl): 41-5.
139. Deraco M, Kusamura S, Laterza B, Favaro M, Fumagalli L, Costanzo P, Baratti D. Cytoreductive Surgery and Hyperthermic Intra-Peritoneal Chemotherapy (HIPEC) in the Treatment of Pseudomyxoma Peritonei: Ten Years Experience in a Single Center. *In Vivo* 2006; 20(6A): 773-6.
140. Pilati P, Mocellin S, Rossi CR, Foletto M, Campana L, Nitti D, Lise M. Cytoreductive Surgery Combined With Hyperthermic Intraperitoneal Intraoperative Chemotherapy for Peritoneal Carcinomatosis Arising From Colon Adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 2003; 10(5): 508-13.
141. Piso P, Dahlke MH, Loss M, Schlitt HJ. Cytoreductive Surgery and Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy in Peritoneal Carcinomatosis From Ovarian Cancer. *World J Surg Oncol* 2004; 2: 21.
142. Smeenk RM, Verwaal VJ, Antonini N, Zoetmulder FA. Survival Analysis of Pseudomyxoma Peritonei Patients Treated by Cytoreductive Surgery and Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy. *Ann Surg* 2007; 245(1): 104-9.
143. Sugarbaker PH, Yonemura Y. Palliation With a Glimmer of Hope: Management of Resectable Gastric Cancer With Peritoneal Carcinomatosis. *Hepatogastroenterology* 2001; 48(41): 1238-47.
144. van d, V, van d, V, Zoetmulder FA, van Goethem AR, van TO, ten Bokkel Huinink WW, Beijnen JH, Bartelink H, Begg AC. Intraperitoneal Cisplatin With Regional Hyperthermia in Advanced Ovarian Cancer: Pharmacokinetics and Cisplatin-DNA Adduct Formation in Patients and Ovarian Cancer Cell Lines. *Eur J Cancer* 1998; 34(1): 148-54.
145. Boese-Landgraf J. Epidemiologie, Vorstufen Und Pathogenese Des Kolorektalen Karzinoms. *Onkologe* 1998; 4: 2-4.

146. de Bree E., Witkamp AJ, Zoetmulder FA. Intraperitoneal Chemotherapy for Colorectal Cancer. *J Surg Oncol* 2002; 79(1): 46-61.
147. Ordemann J, Hoflich C, Braumann C, Hartmann J, Jacobi CA. [Impact of Pneumoperitoneum on Expression of E-Cadherin, CD44v6 and CD54 (ICAM-1) on HT-29 Colon-Carcinoma Cells]. *Zentralbl Chir* 2005; 130(5): 405-9.
148. Aarts F, Hendriks T, Boerman OC, Oyen WJ, Bleichrodt RP. Hyperthermia and Fibrinolytic Therapy Do Not Improve the Beneficial Effect of Radioimmunotherapy Following Cytoreductive Surgery in Rats With Peritoneal Carcinomatosis of Colorectal Origin. *Cancer Biother Radiopharm* 2008; 23(3): 301-9.
149. Ismail M, Henklein P, Huang X, Braumann C, Ruckert RI, Dubiel W. Identification of HIV-1 Tat Peptides for Future Therapeutic Angiogenesis. *Eur J Haematol* 2006; 77(2): 157-65.
150. Shen P, Hawksworth J, Lovato J, Loggie BW, Geisinger KR, Fleming RA, Levine EA. Cytoreductive Surgery and Intraperitoneal Hyperthermic Chemotherapy With Mitomycin C for Peritoneal Carcinomatosis From Nonappendiceal Colorectal Carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2004; 11(2): 178-86.
151. Ahmad SA, Kim J, Sussman JJ, Soldano DA, Pennington LJ, James LE, Lowy AM. Reduced Morbidity Following Cytoreductive Surgery and Intraperitoneal Hyperthermic Chemoperfusion. *Ann Surg Oncol* 2004; 11(4): 387-92.
152. Cavaliere F, Valle M, De SM, Deraco M, Rossi CR, Di FF, Verzi S, Giannarelli D, Perri P, Pilati PL, Vaira M, Di FS, Garofalo A. 120 Peritoneal Carcinomatosis From Colorectal Cancer Treated With Peritonectomy and Intra-Abdominal Chemohyperthermia: a S.I.T.I.L.O. Multicentric Study. *In Vivo* 2006; 20(6A): 747-50.
153. Glehen O, Kwiatkowski F, Sugarbaker PH, Elias D, Levine EA, De SM, Barone R, Yonemura Y, Cavaliere F, Quenet F, Gutman M, Tentes AA, Lorimier G, Bernard JL, Bereder JM, Porcheron J, Gomez-Portilla A, Shen P, Deraco M, Rat P. Cytoreductive Surgery Combined With Perioperative Intraperitoneal Chemotherapy for the Management of Peritoneal Carcinomatosis From Colorectal Cancer: a Multi-Institutional Study. *J Clin Oncol* 2004; 22(16): 3284-92.
154. Mahteme H, Sugarbaker PH. Treatment of Peritoneal Carcinomatosis From Adenocarcinoid of Appendiceal Origin. *Br J Surg* 2004; 91(9): 1168-73.
155. Pestieau SR, Jelinek JS, Chang D, Jacquet P, Sugarbaker PH. CT in the Selection of Patients With Abdominal or Pelvic Sarcoma for Reoperative Surgery. *J Am Coll Surg* 2000; 190(6): 700-10.
156. Portilla AG, Sugarbaker PH, Chang D. Second-Look Surgery After Cytoreduction and Intraperitoneal Chemotherapy for Peritoneal Carcinomatosis From Colorectal Cancer: Analysis of Prognostic Features. *World J Surg* 1999; 23(1): 23-9.
157. Sugarbaker PH, Chang D, Koslowe P. Prognostic Features for Peritoneal Carcinomatosis in Colorectal and Appendiceal Cancer Patients When Treated by Cytoreductive Surgery and Intraperitoneal Chemotherapy. *Cancer Treat Res* 1996; 81: 89-104.

158. Jahne J, Kubler S. [Scoring Systems for Clinical Staging of Peritoneal Carcinomatosis. A Critical Analysis]. *Chirurg* 2007; 78(12): 1091-9.
159. Glehen O, Mohamed F, Sugarbaker PH. Incomplete Cytoreduction in 174 Patients With Peritoneal Carcinomatosis From Appendiceal Malignancy. *Ann Surg* 2004; 240(2): 278-85.
160. Gonzalez BL, Sugarbaker PH, Gonzalez MS, Vazquez VL, Alves S, Moran BJ. Initiation of a Program in Peritoneal Surface Malignancy. *Surg Oncol Clin N Am* 2003; 12(3): 741-53.
161. Glehen O, Osinsky D, Cotte E, Kwiatkowski F, Freyer G, Isaac S, Trillet-Lenoir V, Sayag-Beaujard AC, Francois Y, Vignal J, Gilly FN. Intraperitoneal Chemohyperthermia Using a Closed Abdominal Procedure and Cytoreductive Surgery for the Treatment of Peritoneal Carcinomatosis: Morbidity and Mortality Analysis of 216 Consecutive Procedures. *Ann Surg Oncol* 2003; 10(8): 863-9.
162. Smeenk RM, Verwaal VJ, Zoetmulder FA. Learning Curve of Combined Modality Treatment in Peritoneal Surface Disease. *Br J Surg* 2007; 94(11): 1408-14.
163. Witkamp AJ, de BE, Van GR, Zoetmulder FA. Rationale and Techniques of Intra-Operative Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy. *Cancer Treat Rev* 2001; 27(6): 365-74.
164. Laszlo A, Li GC. Heat-Resistant Variants of Chinese Hamster Fibroblasts Altered in Expression of Heat Shock Protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; 82(23): 8029-33.
165. Landry J, Chretien P, Lambert H, Hickey E, Weber LA. Heat Shock Resistance Conferred by Expression of the Human HSP27 Gene in Rodent Cells. *J Cell Biol* 1989; 109(1): 7-15.
166. Jung H, Dikomey E. Some Basic Effects in Cellular Thermobiology. *Recent Results Cancer Res* 1988; 107: 104-12.
167. Pestieau SR, Schnake KJ, Stuart OA, Sugarbaker PH. Impact of Carrier Solutions on Pharmacokinetics of Intraperitoneal Chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 2001; 47(3): 269-76.
168. Mohamed F, Marchettini P, Stuart OA, Yoo D, Sugarbaker PH. A Comparison of Hetastarch and Peritoneal Dialysis Solution for Intraperitoneal Chemotherapy Delivery. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29(3): 261-5.
169. Elias D, El OA, Bonnay M, Paci A, Ducreux M, Antoun S, Lasser P, Laurent S, Bourget P. Human Pharmacokinetic Study of Heated Intraperitoneal Oxaliplatin in Increasingly Hypotonic Solutions After Complete Resection of Peritoneal Carcinomatosis. *Oncology* 2002; 63(4): 346-52.
170. Mohamed F, Sugarbaker PH. Carrier Solutions for Intraperitoneal Chemotherapy. *Surg Oncol Clin N Am* 2003; 12(3): 813-24.
171. Jacobi CA, Menenakos C, Braumann C. Taurolidine--a New Drug With Anti-Tumor and Anti-Angiogenic Effects. *Anticancer Drugs* 2005; 16(9): 917-21.

172. Braumann C, Henke W, Jacobi CA, Dubiel W. The Tumor-Suppressive Reagent Taurolidine Is an Inhibitor of Protein Biosynthesis. *Int J Cancer* 2004; 112(2): 225-30.
173. Baas P, Murrer L, Zoetmulder FA, Stewart FA, Ris HB, van ZN, Peterse JL, Rutgers EJ. Photodynamic Therapy As Adjuvant Therapy in Surgically Treated Pleural Malignancies. *Br J Cancer* 1997; 76(6): 819-26.
174. Delaney TF, Sindelar WF, Tochner Z, Smith PD, Friauf WS, Thomas G, Dachowski L, Cole JW, Steinberg SM, Glatstein E. Phase I Study of Debulking Surgery and Photodynamic Therapy for Disseminated Intraperitoneal Tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993; 25(3): 445-57.
175. Fisher AM, Danenberg K, Banerjee D, Bertino JR, Danenberg P, Gomer CJ. Increased Photosensitivity in HL60 Cells Expressing Wild-Type P53. *Photochem Photobiol* 1997; 66(2): 265-70.
176. Krueger T, Pan Y, Tran N, Altermatt HJ, Opitz I, Ris HB. Intraoperative Photodynamic Therapy of the Chest Cavity in Malignant Pleural Mesothelioma Bearing Rats. *Lasers Surg Med* 2005; 37(4): 271-7.
177. Molpus KL, Kato D, Hamblin MR, Lilge L, Bamberg M, Hasan T. Intraperitoneal Photodynamic Therapy of Human Epithelial Ovarian Carcinomatosis in a Xenograft Murine Model. *Cancer Res* 1996; 56(5): 1075-82.
178. Schouwink H, Rutgers ET, van der SJ, Oppelaar H, van ZN, van VR, Burgers S, Stewart FA, Zoetmulder F, Baas P. Intraoperative Photodynamic Therapy After Pleuropneumectomy in Patients With Malignant Pleural Mesothelioma: Dose Finding and Toxicity Results. *Chest* 2001; 120(4): 1167-74.
179. Sindelar WF, Delaney TF, Tochner Z, Thomas GF, Dachowski LJ, Smith PD, Friauf WS, Cole JW, Glatstein E. Technique of Photodynamic Therapy for Disseminated Intraperitoneal Malignant Neoplasms. Phase I Study. *Arch Surg* 1991; 126(3): 318-24.
180. Marcus SL, Sobel RS, Golub AL, Carroll RL, Lundahl S, Shulman DG. Photodynamic Therapy (PDT) and Photodiagnosis (PD) Using Endogenous Photosensitization Induced by 5-Aminolevulinic Acid (ALA): Current Clinical and Development Status. *J Clin Laser Med Surg* 1996; 14(2): 59-66.
181. Chan JK, Monk BJ, Cuccia D, Pham H, Kimel S, Gu M, Hammer-Wilson MJ, Liaw LH, Osann K, DiSaia PJ, Berns M, Tromberg B, Tadir Y. Laparoscopic Photodynamic Diagnosis of Ovarian Cancer Using 5-Aminolevulinic Acid in a Rat Model. *Gynecol Oncol* 2002; 87(1): 64-70.
182. Gahlen J, Pietschmann M, Probst RL, Herfarth C. Systemic Vs Local Administration of Delta-Aminolevulinic Acid for Laparoscopic Fluorescence Diagnosis of Malignant Intra-Abdominal Tumors. Experimental Study. *Surg Endosc* 2001; 15(2): 196-9.
183. Canter RJ, Mick R, Kesmodel SB, Raz DJ, Spitz FR, Metz JM, Glatstein EJ, Hahn SM, Fraker DL. Intraperitoneal Photodynamic Therapy Causes a Capillary-Leak Syndrome. *Ann Surg Oncol* 2003; 10(5): 514-24.

184. Gahlen J, Stern J, Pressmar J, Bohm J, Holle R, Herfarth C. Local 5-Aminolevulinic Acid Application for Laser Light-Induced Fluorescence Diagnosis of Early Staged Colon Cancer in Rats. *Lasers Surg Med* 2000; 26(3): 302-7.
185. Gomer CJ, Luna M, Ferrario A, Wong S, Fisher AM, Rucker N. Cellular Targets and Molecular Responses Associated With Photodynamic Therapy. *J Clin Laser Med Surg* 1996; 14(5): 315-21.
186. Hornung R, Fehr MK, Monti-Frayne J, Tromberg BJ, Berns MW, Tadir Y. Minimally-Invasive Debulking of Ovarian Cancer in the Rat Pelvis by Means of Photodynamic Therapy Using the Pegylated Photosensitizer PEG-m-THPC. *Br J Cancer* 1999; 81(4): 631-7.
187. Jolles CJ, Ott MJ, Straight RC, Lynch DH. Systemic Immunosuppression Induced by Peritoneal Photodynamic Therapy. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158(6 Pt 1): 1446-53.
188. Veenhuizen RB, Marijnissen JP, Kenemans P, Ruevekamp-Helmers MC, 't Mannetje LW, Helmerhorst TJ, Stewart FA. Intraperitoneal Photodynamic Therapy of the Rat CC531 Adenocarcinoma. *Br J Cancer* 1996; 73(11): 1387-92.
189. Beese G, Fuchs KH, Thiede A. [Experimental Studies of the Value of the Pouch After Gastrectomy]. *Zentralbl Chir* 1994; 119(12): 904-10.
190. Marciniak R, Majewski P, Biczysko M, Banasiewicz T, Wozniak A, Drews M. Effects of Gastrectomy or Colectomy on Liver Metabolism and Liver Morphology in an Experimental Rat Model. *Med Sci Monit* 2004; 10(2): BR34-BR40.
191. Ursino MG, Vasina V, De PF. Protection From DNBS-Induced Colitis by the Tachykinin NK(1) Receptor Antagonist SR140333 in Rats. *Eur J Pharmacol* 2008; 14:245-260.
192. Lucca G, Comim CM, Valvassori SS, Reus GZ, Vuolo F, Petronilho F, Gavioli EC, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Increased Oxidative Stress in Submitochondrial Particles into the Brain of Rats Submitted to the Chronic Mild Stress Paradigm. *J Psychiatr Res* 2008; 5(6):356-360.
193. Earp JC, Pyszczynski NA, Molano DS, Jusko WJ. Pharmacokinetics of Dexamethasone in a Rat Model of Rheumatoid Arthritis. *Biopharm Drug Dispos* 2008; 29(6): 366-72.
194. Earp JC, Dubois DC, Almon RR, Jusko WJ. Quantitative Dynamic Models of Arthritis Progression in the Rat. *Pharm Res* 2009; 26(1): 196-203.
195. Derumeaux G, Mulder P, Richard V, Chagraoui A, Nafeh C, Bauer F, Henry JP, Thuillez C. Tissue Doppler Imaging Differentiates Physiological From Pathological Pressure-Overload Left Ventricular Hypertrophy in Rats. *Circulation* 2002; 105(13): 1602-8.
196. Shimizu M, Konstantinov IE, Suess AM, Cheung M, McCrindle BW, Vogel M, Redington AN. Noninvasive Analysis of Myocardial Function Using High-Resolution Doppler Tissue Echocardiography in Rats. *J Am Soc Echocardiogr* 2005; 18(5): 461-7.

197. Vogel M, Schmidt MR, Kristiansen SB, Cheung M, White PA, Sorensen K, Redington AN. Validation of Myocardial Acceleration During Isovolumic Contraction As a Novel Noninvasive Index of Right Ventricular Contractility: Comparison With Ventricular Pressure-Volume Relations in an Animal Model. *Circulation* 2002; 105(14): 1693-9.
198. Watson LE, Sheth M, Denyer RF, Dostal DE. Baseline Echocardiographic Values for Adult Male Rats. *J Am Soc Echocardiogr* 2004; 17(2): 161-7.
199. Hirano T, Asanuma T, Azakami R, Okuda K, Ishikura F, Beppu S. Noninvasive Quantification of Regional Ventricular Function in Rats: Assessment of Serial Change and Spatial Distribution Using Ultrasound Strain Analysis. *J Am Soc Echocardiogr* 2005; 18(9): 907-12.
200. Plante E, Lachance D, Roussel E, Drolet MC, Arsenault M, Couet J. Impact of Anesthesia on Echocardiographic Evaluation of Systolic and Diastolic Function in Rats. *J Am Soc Echocardiogr* 2006; 19(12): 1520-5.
201. Pagel PS, Schmeling WT, Kampine JP, Warltier DC. Alteration of Canine Left Ventricular Diastolic Function by Intravenous Anesthetics in Vivo. Ketamine and Propofol. *Anesthesiology* 1992; 76(3): 419-25.
202. Takeuchi M, Nakai H, Kokumai M, Nishikage T, Otani S, Lang RM. Age-Related Changes in Left Ventricular Twist Assessed by Two-Dimensional Speckle-Tracking Imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2006; 19(9): 1077-84.
203. Serri K, Reant P, Lafitte M, Berhouet M, Le B, V, Roudaut R, Lafitte S. Global and Regional Myocardial Function Quantification by Two-Dimensional Strain: Application in Hypertrophic Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47(6): 1175-81.
204. Perk G, Tunick PA, Kronzon I. Non-Doppler Two-Dimensional Strain Imaging by Echocardiography--From Technical Considerations to Clinical Applications. *J Am Soc Echocardiogr* 2007; 20(3): 234-43.
205. Bertino JR. Adjuvant Chemotherapy and Cancer Cure. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1982; 8(1): 109-13.
206. Janni W, Rjosk D, Strobl B, Bergauer F, Linka F, Dimpfl T, Schindlbeck C, Rack B, Kaestner R, Sommer H. [Chemotherapy-Associated Myelosuppression in Gynecological Oncology]. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch* 2001; 41(3): 166-73.
207. Tannock IF. Experimental Chemotherapy and Concepts Related to the Cell Cycle. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 1986; 49(2): 335-55.
208. Bodey GP, Buckley M, Sathe YS, Freireich EJ. Quantitative Relationships Between Circulating Leukocytes and Infection in Patients With Acute Leukemia. *Ann Intern Med* 1966; 64(2): 328-40.
209. Artym J, Zimecki M, Kruzel M. Normalization of Peripheral Blood Cell Composition by Lactoferrin in Cyclophosphamide-Treated Mice. *Med Sci Monit* 2004; 10(3): BR84-BR89.
210. Friberg LE, Freijs A, Sandstrom M, Karlsson MO. Semiphysiological Model for the Time Course of Leukocytes After Varying Schedules of 5-Fluorouracil in Rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 295(2): 734-40.

211. Sundman-Engberg B, Tidefelt U, Paul C. Toxicity of Cytostatic Drugs to Normal Bone Marrow Cells in Vitro. *Cancer Chemother Pharmacol* 1998; 42(1): 17-23.
212. Sundman-Engberg B, Tidefelt U, Liliemark J, Paul C. Intracellular Concentrations of Anti Cancer Drugs in Leukemic Cells in Vitro Vs in Vivo. *Cancer Chemother Pharmacol* 1990; 25(4): 252-6.
213. Woo S, Krzyzanski W, Jusko WJ. Pharmacodynamic Model for Chemotherapy-Induced Anemia in Rats. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008; 62(1): 123-33.
214. Braumann C, Menenakos C, Atanassov V, Pfirrmann RW, Guenther N, Jacobi CA. Leukopoiesis Is Not Affected After Intravenous Treatment With the Novel Antineoplastic Agent Taurolidine. Results of an Experimental Study in Rats. *Eur Surg Res* 2008; 40(4): 341-6.
215. Friberg LE, Karlsson MO. Mechanistic Models for Myelosuppression. *Invest New Drugs* 2003; 21(2): 183-94.
216. Deraco M, Baratti D, Kusamura S. Morbidity and Quality of Life Following Cytoreduction and HIPEC. *Cancer Treat Res* 2007; 134: 403-18.
217. Esquivel J, Vidal-Jove J, Steves MA, Sugarbaker PH. Morbidity and Mortality of Cytoreductive Surgery and Intraperitoneal Chemotherapy. *Surgery* 1993; 113(6): 631-6.
218. Jacquet P, Stephens AD, Averbach AM, Chang D, Ettinghausen SE, Dalton RR, Steves MA, Sugarbaker PH. Analysis of Morbidity and Mortality in 60 Patients With Peritoneal Carcinomatosis Treated by Cytoreductive Surgery and Heated Intraoperative Intraperitoneal Chemotherapy. *Cancer* 1996; 77(12): 2622-9.
219. Lynch DH, Haddad S, King VJ, Ott MJ, Straight RC, Jolles CJ. Systemic Immunosuppression Induced by Photodynamic Therapy (PDT) Is Adoptively Transferred by Macrophages. *Photochem Photobiol* 1989; 49(4): 453-8.
220. Canter RJ, Mick R, Kesmodel SB, Raz DJ, Spitz FR, Metz JM, Glatstein EJ, Hahn SM, Fraker DL. Intraperitoneal Photodynamic Therapy Causes a Capillary-Leak Syndrome. *Ann Surg Oncol* 2003; 10(5): 514-24.

12. Danksagung

Hiermit möchte ich mich an erster Stelle bei Prof. Dr. med. J.M. Müller bedanken, der mir mit Aufnahme an seiner Klinik die Möglichkeit gegeben hat, diese wissenschaftliche Untersuchung durchzuführen und diese zu jeder Zeit mit Rat und Tat begleitet hat.

Gleichzeitig danke ich allen ärztlichen Kollegen der Chirurgischen Klinik der Charité Campus Mitte für Ihre Unterstützung zur Durchführung meines Projektes.

Mein besonderer Dank gilt den fleißigen Helfern, die zum Gelingen der Untersuchungen und der Arbeit beigetragen haben, namentlich Herr Dr. Nocon, Frau Führer, Frau Makareinis, Frau Cardenas sowie Herrn PD Dr. Borges und seinen Mitarbeitern.

Weiterhin möchte ich Herrn PD Dr. med. B. Ablasmaier danken, der mir den Blick für wissenschaftliche Arbeit geöffnet hat und mich als chirurgischer Lehrer geformt hat.

Den größten Dank aber möchte ich meiner Familie mit meiner Frau Sabine und meinen Kindern Johanna und Leonard aussprechen, die mit ihrer schier unendlichen Geduld und Ausdauer der Grundpfeiler zur Erstellung dieser Arbeit waren.

EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

gemäß Habilitationsordnung der Medizinischen Fakultät

Hiermit erkläre ich, dass

- keine staatsanwaltlichen Ermittlungsverfahren gegen mich anhängig sind,
- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde bzw. welchen Ausgang ein durchgeführtes Habilitationsverfahren hatte;
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst wurde, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

.....

Datum

.....

Unterschrift