

**Aus der Radiologischen Universitätsklinik Tübingen  
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. C. D. Claussen**

**Experimentelle Untersuchungen zur Effektivität der  
Chemoembolisation von Lebertumoren**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard-Karls-Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von  
Thomas Christoph Lothar Eul  
aus  
Koblenz**

**2004**

Dekan: Prof. Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. P. E. Huppert
2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. P.L. Pereira

Für meine Eltern  
und Geschwister Andrea und Martin



# Inhaltsverzeichnis

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Inhaltsverzeichnis</b>  | <b>5</b>  |
| <b>1. Einleitung</b>   | <b>7</b>  |
| <b>2. Material und Methodik</b>  | <b>22</b> |
| <b>2.1. Statistische Planung</b>   | <b>22</b> |
| 2.1.1. Gruppenzuordnung  | 22        |
| 2.1.2. Statistische Analyse  | 25        |
| <b>2.2. Versuchsablauf</b>   | <b>27</b> |
| <b>2.3. Medikamente</b>  | <b>29</b> |
| 2.3.1. Carrier   | 29        |
| 2.3.1.1. Lipiodol®   | 29        |
| 2.3.1.2. DSM   | 30        |
| 2.3.1.3. Poly-Laktid-Co-Glycolid-Mikrosphären  | 31        |
| 2.3.2. Ligatur   | 32        |
| 2.3.3. Mitomycin C als Substanz zur lokalen Chemotherapie                                    | 32        |
| <b>2.4. Versuchstiere</b>  | <b>33</b> |
| <b>2.5. Tumormodell</b>  | <b>34</b> |
| 2.5.1. Aufarbeitung der Tumorzellen und Züchten des Spendertumors                            | 34        |
| 2.5.2. Tumorimplantation   | 35        |
| <b>2.6. Narkose</b>  | <b>36</b> |
| <b>2.7. Katheterisierung der Arteria gastroduodenalis</b>                                    | <b>36</b> |
| <b>2.8. Therapiedurchführung</b>   | <b>40</b> |
| 2.8.1. Ligatur der Arteria hepatica propria (Gruppe A)                                       | 40        |
| 2.8.2. Lipiodol® -Behandlung (Gruppe B)  | 41        |
| 2.8.3. Mitomycin C - Behandlung (Gruppe C)   | 41        |
| 2.8.4. DSM-Behandlung (Gruppe D)   | 41        |
| 2.8.5. Mitomycin C + DSM - Behandlung (Gruppe E)   | 41        |
| 2.8.6. Mitomycin C + Ligatur der Arteria hepatica propria -Behandlung (Gruppe F)             | 42        |
| 2.8.7. Mitomycin C + Lipiodol® - Behandlung (Gruppe G)                                       | 42        |
| 2.8.8. Mitomycin C + Lipiodol® + Ligatur der Arteria hepatica propria -Behandlung (Gruppe H) | 42        |
| 2.8.9. Mitomycin C + DSM + Ligatur der Arteria hepatica propria -Behandlung (Gruppe I)       | 42        |
| 2.8.10. Mitomycin C + Poly-Laktid-Co-Glycolid-Mikrosphären - Behandlung (Gruppe J)           | 43        |
| 2.8.11. DSM + Ligatur der Arteria hepatica propria -Behandlung (Gruppe L)                    | 43        |
| 2.8.12. Lipiodol® + Ligatur der Arteria hepatica propria -Behandlung (Gruppe M)              | 43        |
| 2.8.13. Kontrollgruppen (Gruppen K1 und K2)  | 43        |
| <b>2.9. Bildgebung und Berechnung des Tumolvolumens</b>                                      | <b>43</b> |

|              |   |            |
|--------------|---|------------|
| <b>3.</b>    | <b><i>Ergebnisse</i></b>  | <b>45</b>  |
| <b>3.1.</b>  | <b>Nicht in die Wertung eingegangene Tiere</b>                    | <b>45</b>  |
| <b>3.2.</b>  | <b>Ergebnisse aus Teil A der Arbeit</b>                           | <b>46</b>  |
| <b>3.3.</b>  | <b>Ergebnisse aus Teil B der Arbeit</b>                           | <b>49</b>  |
| <b>3.4.</b>  | <b>Exemplarische Auswahl der Kernspinbilder</b>                   | <b>60</b>  |
| 3.4.1.       | Anatomie auf den Schnittbildern                                   | 61         |
| 3.4.2.       | Beispiele für Tumoren vor und nach Therapie                       | 62         |
| <b>4.</b>    | <b><i>Diskussion</i></b>  | <b>65</b>  |
| <b>4.1.</b>  | <b>Tumorimplantation und Tumormodell</b>                          | <b>66</b>  |
| <b>4.2.</b>  | <b>Katheterisierung</b>   | <b>67</b>  |
| <b>4.3.</b>  | <b>Kernspintomographie zur Darstellung von Tumoren bei Ratten</b> | <b>68</b>  |
| <b>4.4.</b>  | <b>Behandlung des Hepatozellulären Karzinoms</b>                  | <b>69</b>  |
| <b>4.5.</b>  | <b>Optimierung des Verfahrens</b>                                 | <b>74</b>  |
| <b>5.</b>    | <b><i>Zusammenfassung</i></b>                                     | <b>76</b>  |
| <b>6.</b>    | <b><i>Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen</i></b>             | <b>80</b>  |
| <b>7.</b>    | <b><i>Verzeichnis der Tabellen</i></b>                            | <b>81</b>  |
| <b>8.</b>    | <b><i>Verzeichnis der Abbildungen</i></b>                         | <b>82</b>  |
| <b>9.</b>    | <b><i>Literatur</i></b>   | <b>84</b>  |
| <b>10.</b>   | <b><i>Anhang</i></b>  | <b>99</b>  |
| <b>10.1.</b> | <b>Einzelwerte des Teils A der Arbeit</b>                         | <b>99</b>  |
| <b>10.2.</b> | <b>Einzelwerte des Teils B der Arbeit</b>                         | <b>100</b> |
| <b>11.</b>   | <b><i>Danksagungen</i></b>  | <b>104</b> |
| <b>12.</b>   | <b><i>Lebenslauf</i></b>  | <b>105</b> |

# 1. Einleitung

Das Hepatozelluläre Karzinom (HCC) ist weltweit einer der häufigsten malignen Tumoren (Altmann HW, 1984). In der westlichen Welt macht es ein bis zwei Prozent aller malignen Tumoren aus, dabei über 90 % der primären Leberkarzinome und 80 % aller Lebertumoren. (Allgaier HP et al., 1996a; Pfeiffer U, 1993). Die Inzidenz in Europa und den USA liegt bei einer bis vier Erkrankungen pro 100 000 Einwohner und Jahr (Reinwald H, 1997), in Deutschland selbst liegt die Prävalenz bei 3,6 (Männer) bzw. 1,5 (Frauen) pro 100 000 (Munoz N und Bosch X, 1987). Dagegen ist das HCC in den Ländern Asiens und Afrikas mit 40 bis 50 % aller auftretenden Karzinome der häufigste maligne Tumor (Blum HE und Pausch J, 1987; Wanebo HJ et al., 1989; Woltmann A et al., 1995b), seine Inzidenz ist in diesen Ländern weiter ansteigend. (Admus R et al., 1997). Weltweit sterben jährlich etwa 250 000 Patienten an dieser Neoplasie (Colleoni M et al., 1997).

Viele Ursachen für das Auftreten des HCC wurden in den letzten Jahren erkannt. Die wichtigste ist die floride Leberzirrhose, die unabhängig von ihrer Genese als Präkanzerose des HCC gilt (Blum HE und Pausch J, 1987; Maier KP, 1995). In Europa ist das Hepatozelluläre Karzinom vor allem alkoholtoxisch bedingt (Classen M et al., 1991), in Asien und Afrika sind Hepatitis-B- und -C-Infektionen bedeutende ätiologische Faktoren (Colombo M, 1992; Simonetti RG et al., 1991; Takano S et al., 1995). Weiterhin gilt ein Kausalzusammenhang des HCC mit Aflatoxin, chronischer Lebervenenabflussstörung, Hämochromatose und Alpha-1-Antitrypsin-Mangel weitgehend als gesichert, mit Nitrosaminen, Androgenen, Kontrazeptiva und primärer biliärer Zirrhose wird er diskutiert (Wanebo HJ et al., 1989; Jauch KW, 1993; Maier KP 1995; Schalhorn A und Jauch KW, 1994; Wils J, 1993).

Da das Leberzellkarzinom selbst kaum Beschwerden macht, sind die auftretenden Symptome meist eine Folge der Grunderkrankungen, die zum HCC führte, also vor allem einer Leberzirrhose (80 % der Fälle). Die Patienten geben Oberbauchschmerzen, Gewichtsabnahme, Appetitlosigkeit, Abgeschlagenheit, ein zunehmendes Druckgefühl und Druckschmerz im rechten Oberbauch an. Weiterhin finden sich eine tastbare

Vorwölbung der Bauchdecke und verstärkte Hormonwirkungen (z.B. Gynäkomastie). Prognostisch ungünstige Symptome sind Ikterus, Aszites, Fieber und Blutungen. Laborchemisch können in bis zu 38 % der Fälle eine Hypoglykämie, eine Hyperkalzämie, eine Polyglobulie eine Hypercholesterinämie oder eine Hyperthyreose registriert werden. Die „gewöhnlichen Leberwerte“ (Transaminasen) sind meist nicht charakteristisch erhöht. Wegweisend ist hingegen ein hohes  $\alpha$ -Fetoprotein (AFP), vor allem wenn es Werte von 500 ng/ml erreicht oder übersteigt. Eine AFP-Erhöhung findet sich bei etwa 80 % der Leberzellkarzinome in Südafrika und Südostasien, in westlichen Ländern nur bei etwa 40%. In diesen Fällen eignet sich die AFP-Bestimmung zur Verlaufskontrolle, um Rezidive und Metastasen frühzeitig zu erkennen. (Jauch KW, 1993; Dold U et al., 1993; Schalhorn A und Jauch KW, 1994; Govan ADT et al., 1993; Häussinger D, 1991; Herfarth C und Senninger N, 1992; Maier KP, 1995; Wallner I et al., 1994).

Unbehandelt ist die Prognose des Leberzellkarzinoms sehr schlecht: Die durchschnittliche Überlebenszeit nach Diagnosestellung beträgt wenige Monate (Ringe B et al., 1991). Die Prognose ist von der Größe des Tumors, der Anzahl der Tumorherde und dem Schweregrad der oft mit einhergehenden Leberfunktionsstörung abhängig. Okuda et al. (1985) definieren ein Punktesystem zur HCC-Stadieneinteilung mit den Parametern Tumorausdehnung, Vorhandensein von Aszites und Serumbilirubin bzw. -albumin.

**Tabelle 1: Okuda-Stadien des HCC (Okuda K et al., 1985)**

| Parameter         | Punktwertung |            |
|-------------------|--------------|------------|
| Tumorausdehnung   | < 50 % = 0   | > 50 % = 1 |
| Aszites           | Nein = 0     | Ja = 1     |
| Bilirubin (mg/dl) | < 3 = 0      | > 3 = 1    |
| Albumin (g/dl)    | > 3 = 0      | < 3 = 1    |
| Stadium I         | 0 Punkte     |            |
| Stadium II        | 1 – 2 Punkte |            |
| Stadium III       | 3 – 4 Punkte |            |

Die Schwere der Leberzirrhose, die große prognostische Bedeutung hat, wird in der Regel mit dem Child-Pugh-Score klassifiziert (Tabelle 2) (Pugh RNH et al., 1973).

**Tabelle 2: Child-Pugh-Klassifikation der Leberzirrhose (Pugh RNH et al., 1973)**

| Parameter   | Punkte |             |           |
|---|--------|-------------|-----------|
|   | 1      | 2           | 3         |
| Albumin (g/dl)  | > 3,5  | 2,8 – 3,5   | < 2,8     |
| Bilirubin (mg/dl)   | < 2,0  | 2,0 – 3,0   | > 3,0     |
| Quick (%)   | > 70   | 40 – 70     | < 40      |
| Aszites   | Keinen | Mäßig viel  | Viel      |
| Enzephalopathie   | Keine  | Grad I – II | > Grad II |
| Gesamtpunktzahl:<br>Child A: 5 – 6 Punkte; Child B: 7 – 9 Punkte; Child C: 10 – 15 Punkte |        |             |           |

Die TNM-Klassifikation berücksichtigt neben der Größe des Primärtumors die intrahepatische Metastasierung, die Lokalisation, eine Gefäßinvasion, Lymphknoten- und Fernmetastasen (Behrs O, 1992) (Tabelle 3). Eine Einschränkung besteht bei nicht operierten Patienten, da die Evaluation des Status der befallenen Lymphknoten mit bildgebenden Verfahren durch geringe Sensitivität eingeschränkt ist (Allgaier HP, 1996b).

**Tabelle 3: TNM-Klassifikation des Hepatozellulären Karzinoms (Behrs O, 1992)**

| <b>Primärtumor (T)</b>           |  |
|----------------------------------|--|
| Tx                               | Primärtumor nicht beurteilbar  |
| T0                               | Kein Primärtumor nachweisbar   |
| T1                               | Solitärtumor ≤ 2 cm ohne Gefäßinvasion   |
| T2                               | Solitärtumor ≤ 2 cm mit Gefäßinvasion oder multiple Tumoren begrenzt auf einen Lappen*, keiner > als 2 cm, ohne Gefäßinvasion oder Solitärtumor >2 cm ohne Gefäßinvasion   |
| T3                               | Solitärtumor > 2 cm mit Gefäßinvasion oder multiple Tumoren begrenzt auf einen Lappen*, keiner > 2 cm, mit Gefäßinvasion oder multiple Tumoren begrenzt auf einen Lappen*, einer > 2 cm, mit oder ohne Gefäßinvasion |
| T4                               | Multiple Tumoren in mehr als einem Lappen* oder Tumoren mit Befall eines größeren Astes der V. portae oder der Vv. hepaticae   |
| <b>Lymphknotenmetastasen (N)</b> |  |
| Nx                               | Regionäre Lymphknoten nicht beurteilbar  |
| N0                               | Keine regionären Lymphknotenmetastasen   |
| N1                               | Regionäre Lymphknotenmetastasen  |
| <b>Fernmetastasen (M)</b>        |  |
| Mx                               | Fernmetastasen nicht beurteilbar   |
| M0                               | Keine Fernmetastasen   |
| M1                               | Fernmetastasen   |

\* Fiktive Unterteilung der Leber in zwei Lappen, definiert durch die Ebene zwischen Gallenblase und V. cava inferior

Auf der TNM-Klassifikation basierend wird das Hepatozelluläre Karzinom nach der „International Union against Cancer“ (UICC) in vier Stadien eingeteilt (Tabelle 4) (Beahrs O, 1992).

**Tabelle 4: Stadieneinteilung des Hepatozellulären Karzinoms nach UICC (Beahrs O, 1992)**

| Stadium      | Primärtumor (T) | Lymphknotenmetastasen (N) | Fernmetastasen (M) |
|--------------|-----------------|---------------------------|--------------------|
| Stadium I    | T 1             | N 0                       | M 0                |
| Stadium II   | T 2             | N 0                       | M 0                |
| Stadium III  | T 1             | N 1                       | M 0                |
|              | T 2             | N 1                       | M 0                |
|              | T 3             | N 0                       | M 0                |
|              | T 3             | N 1                       | M 0                |
| Stadium IV A | T 4             | N 0, N 1                  | M 0                |
| Stadium IV B | T 1 – T 4       | N 0, N 1                  | M 1                |

Charakteristisch für das HCC ist der rasche, progrediente Verlauf: Bei Diagnosestellung bestehen die Symptome meist erst 6 – 8 Wochen. Symptomatische Patienten haben eine Überlebenszeit von nur zwei bis vier Monaten, asymptomatische mit einem Tumor unter fünf Zentimetern von neun bis zehn Monaten (Maier KP, 1995; Shichijo Y und Inoue Y, 1985).

Für die Überlebenszeit ist das Stadium des HCC entscheidend. In Abhängigkeit von den Okuda-Stadien sind in Tabelle 5 die medianen Überlebenszeiten und die Ein-Jahres-Überlebensraten angegeben (Schalhorn A und Jauch KW, 1994).

**Tabelle 5: Mediane Überlebenszeit und Ein-Jahres-Überlebensrate in Abhängigkeit vom Okuda-Stadium (Schalhorn A und Jauch KW, 1994)**

| Okuda-Stadium | Mediane Überlebenszeit | 1-Jahres-Überlebensrate |
|---------------|------------------------|-------------------------|
| I             | 11 Monate              | 39 %                    |
| II            | 3 Monate               | 12 %                    |
| III           | 1 Monat                | 3 %                     |

Das Fehlen einer Pfortaderthrombose und von Metastasen, uninoduläre Tumoren unter drei bis fünf Zentimetern, ein niedriges AFP und ein Alter unter 60 Jahren sind mit einer günstigeren Prognose assoziiert. Außerdem hat das fibrolamelläre HCC eine bessere Prognose. Ungünstig sind wenig differenzierte Tumoren und der Bedarf von Bluttransfusionen (Wallner I et al., 1994; Paraskevopoulos JA, 1994).

Die Größenrelevanz für die Prognose zeigt sich zum Beispiel in der Drei-Jahres-Überlebensrate für kleine HCC mit einem Durchmesser unter fünf Zentimetern bei noch

guter Leberfunktion (Child-Pugh-Stadium A), die mit 20 bis 25 % angegeben wird (Allgaier HP et al., 1996).

Makroskopisch zeigt sich der Tumor in drei unterschiedlichen Formen: solitär, multifokal nodulär oder diffus wachsend. Die Tumoren haben abhängig vom Differenzierungsgrad eine braun-rote, grünliche oder grau-weiße Farbe. Histologisch reicht das Spektrum von anaplastischen Tumorzellformen mit mehrkernigen Riesenzellen und unter Umständen auch spindelzelligen Arealen bis hin zu gut differenzierten, azinär strukturierten Karzinomen. Nicht selten kommt eine partielle cholangiozelluläre Differenzierung vor. Die Zellen gut differenzierter HCC können Veränderungen wie das normale Lebergewebe zeigen: Verfettungen, Bildungen von Pigmenten und Bildung von Mallory-Hyalin (Denk H, 1996; Pfeiffer U, 1993). Charakteristisch sind das knotenbildende Wachstum in präformierten Zirrhoseknoten und die Tendenz, intrahepatische Metastasen zu bilden, welche durch Pendelblut in der zirrhotischen Leber erklärt wird. Die Anzahl dieser Satellitentumoren steigt mit der Größe des Primärtumors.

Das HCC wächst über Organbegrenzungen hinweg. Bei Diagnosestellung existieren in bis zu 60 % der Fälle bereits Infiltrationen der Pfortader und in bis zu 25 % Infiltrationen der Lebervenen. Seltener sind die Gallenwege, das Zwerchfell oder die Nieren betroffen. Die Metastasierung des Hepatozellulären Karzinoms beginnt früh und verläuft in 53 % der Fälle hämatogen und in 30 % lymphogen. Man findet sie bei 20 bis 60 % der Patienten. Betroffen ist vorwiegend die Lunge, aber auch das Zwerchfell, das Skelett, die Nebennieren, das Zentralnervensystem und das Peritoneum können Ziel der Streuung sein (Blum HE und Pausch J, 1987; Schalhorn A und Jauch KW, 1994; Holzapfel P, 1993; Wallner I et al., 1994).

Einen besonderen Typ des HCC stellt das fibrolamelläre Karzinom dar: Es entsteht vor allem in der nicht zirrhotischen Leber und wird auffallend oft im linken Leberlappen gefunden. Seine Zellen enthalten viele pathologisch veränderte Mitochondrien, die für die Azidophilie verantwortlich sind. Gefunden wird es vorwiegend bei jüngeren Patienten. Es wächst expansiv und hat eine deutlich bessere Prognose als andere Formen des HCC (Pfeiffer U, 1993; Denk H, 1996).

Diagnostiziert wird ein HCC meist im Anschluss an die zufällige Entdeckung einer Raumforderung in der Leber mittels Sonographie oder CT. Nach einer gezielten Anamnese und klinischen Untersuchung helfen Laborparameter, Ultraschall, farbkodierte Duplexsonographie, CT, MRT und gegebenenfalls eine Angiographie die Diagnose zu sichern.

Die klinische Arbeitsdiagnose des HCC ist nach Woltmann et al. (1995a) nicht sehr hoch: Die Sensitivität beträgt nach diesen Angaben nur 43 bis 61 %, die Spezifität ist mit 99 % hingegen sehr hoch. Daher sollte nach Möglichkeit immer eine feingewebliche Untersuchung zur Diagnosesicherung benigner und maligner Lebertumoren angestrebt werden.

Da bei 80 % der HCC-Patienten die Leberzirrhose auf Alkoholkrankheit, Hepatitis-B oder Hepatitis-C beruht, kann die Anamnese wie bei anderen Erkrankungen richtungsweisend für die Diagnose sein (Maier KP 1995). Eine AFP-Erhöhung über 500 U/ml macht eine HCC-Erkrankung wahrscheinlich, insbesondere wenn auch eine Leberzirrhose nachweisbar ist.

Wegen der hohen Metastasierungsneigung des HCC werden nach der Diagnose eine Röntgenuntersuchung des Thorax oder ein Thorax-CT und eine Skelettszintigraphie durchgeführt, um ein Staging vornehmen zu können.

Der Verdacht auf ein Hepatozelluläres Karzinom kann durch eine ultraschallgesteuerte Feinnadelbiopsie mit Histologie und Immunhistochemie gesichert werden (Reinwald H, 1997).

Der Ultraschall ist geeignet, auch kleine HCC zu erkennen. Seine Sensitivität liegt laut Maier abhängig von der Tumorgöße zwischen 73 und 98 %, für kleine Tumoren (unter drei Zentimetern) bei etwa 85 %. Wird die Sonographie intraoperativ angewendet, so beträgt die Sensitivität 96 % (Maier KP, 1995). Die Sensitivität kann durch Applikation eines Kontrastmittels, z.B. von fünf bis zehn Millilitern Kohlendioxid in die Arteria hepatica, weiter erhöht werden, wodurch 20 % mehr Hepatozelluläre Karzinome erkannt werden, und die Rate derer Hepatozelluläre Karzinome sinkt, die später als neu aufgetreten eingestuft werden (Imari Y et al., 1992).

In der Sonographie zeigt sich das HCC zu 80 % im Lobus dexter, in 50 % der Fälle solitär (Holzapfel P, 1993). Kleine Tumoren sind eher echoarm, bei Größenzunahme werden sie infolge von Nekrosen, Fibrose, fettiger Degeneration, Einblutungen, Infarzierung und erweiterter Sinusoide echoreicher und inhomogener. Aber auch große HCC können echoarm sein (Bundschu HD et al., 1992; Rettenmeier G und Seitz KH, 1992; Weiss H, 1991; Holzapfel P 1993). Schwierig ist die sonographische Abgrenzung des HCC (vor allem bei großen Tumoren) gegen Echinococcus alveolaris, fokaler nodulärer Hyperplasie, Leberadenomen, regressiv veränderten Hämangiomen oder Leberabszessen, bei kleinen Hepatozellulären Karzinomen auch von Metastasen (Rettenmeier G und Seitz KH, 1992; Börner N et al., 1987).

Mit der farbkodierten Duplexsonographie kann die in 92 % der Fälle vorliegende Hypervaskularisation eines HCC erfasst werden. Zusätzlich sind auch Gefäßinfiltrationen, Thrombosen, AV-Shunts und große zuführende Gefäße mit dieser Technik nachzuweisen. Dies erleichtert die Abgrenzung zu Lebermetastasen und Hämangiomen (Börner N et al., 1990; Stern W et al., 1994).

Die Sensitivität der dynamischen (Bolus-) CT lag vor einigen Jahren bei 80 % (Merine D et al., 1990; Hayashi N et al., 1987; Hirai K et al., 1991; Watanabe A et al., 1986)., konnte aber mit verbesserten Aufnahmeverfahren erheblich verbessert werden. Um einen möglichst großen Kontrast zwischen Lebergewebe und den Läsionen zu erhalten, wird heute das Zwei-Phasen-CT eingesetzt: Hierbei werden 15 und 60 Sekunden nach Kontrastmittelgabe Schnittbilder angefertigt. Zum Nachweis von HCC's ist insbesondere die früharterielle Phase nach 15 Sekunden geeignet, da das HCC arteriell versorgt wird.

Noch besser geeignet ist die Bolus getriggerte CT. Dabei werden die Dichtewerte des Kontrastmittels in einem bestimmten Bereich, z. B. der Aorta kontinuierlich gemessen und ab einem bestimmten Wert wird der Aufnahmebeginn getriggert.

Außer bei der Diagnostik eignet sich die CT-Untersuchung auch zur Verlaufskontrolle bei regional durchgeführten Therapien, indem sie die therapeutisch induzierten Nekrosen im Tumorgewebe und Knoten in der Tumorperipherie aufzeigt, die auf Resttumorgewebe hindeuten (Nagel SH und Bernadino ME, 1993).

Bei der Lipiodol<sup>®</sup>-CT wird die zum normalen Lebergewebe verlängerte Speicherung von Jodlipiden im Tumorgewebe ausgenützt. Diese Speicherung findet allerdings auch in anderen Lebertumoren statt. Das Lipiodol<sup>®</sup> wird intraarteriell injiziert und ist noch nach sieben bis vierzehn Tagen, ggf. auch noch nach Monaten, mittels CT nachweisbar. Die Sensitivität der Methode beträgt zum Nachweis von Hepatozellulären Karzinomen 50 bis 93 % und selbst Läsionen mit einem Durchmesser von weniger als einem Zentimeter werden noch in 83 % der Fälle erfasst. Auch Gefäßinvasionen werden mit dieser Methode gut wiedergegeben. (Blum HE und Pausch J, 1987; Yumoto Y et al., 1985; Merine D et al., 1990; Hayashi N et al., 1987).

Bei der arteriportalen CT (CTAP oder CT-Portographie) liegt die Sensitivität zwischen 38 und 94 % (Merine D et al., 1990). Hierbei werden ca. 100-150 Milliliter Kontrastmittel über einen in der Arteria mesenterica superior oder in der Arteria lienalis gelegenen Katheter appliziert. Das gesunde Lebergewebe wird kontrastiert, und die malignen Areale des HCC heben sich aufgrund ihrer fast ausschließlich arteriellen Versorgung nicht kontrastiert ab. Da diese Untersuchung aber invasiv und aufwendig ist, sollte sie potentiellen Resektionskandidaten vorbehalten bleiben (Schaefer C et al., 1995). Der Nachteil dieser Untersuchungstechnik liegt in der geringen Spezifität, denn es kommen sowohl gutartige als auch bösartige Neoplasien der Leber in ähnlicher Weise zur Darstellung, außerdem sind zahlreiche Artefakte infolge einer inhomogenen Perfusion der Leber bei Leberzirrhose möglich.

Die Magnetresonanztomographie (MRT) ist mit einer Sensitivität von 57 bis 92 % geeignet, Leberzellkarzinome zu erkennen. Auch kleine Läsionen können gut dargestellt werden. Bei Herden einer Größe bis zu einem Zentimeter beträgt die Sensitivität 67 %, für bis zu drei Zentimeter große Herde 92 % (Hirai K et al., 1991; Merine D et al., 1990; Honda H et al., 1992; Oi H et al., 1996; Kim T et al., 1995). Das MRT ist besser als das CT geeignet, in der zirrhotischen Leber ein HCC und mögliche Gefäßinvasionen zu diagnostizieren. Ferner kann es teilweise Aufschluss über den Entartungsgrad des HCC geben.

Da spezielle Kontrastmittel zur Leberdiagnostik mittels MRT bereits entwickelt werden, ist davon auszugehen, dass die Nachweisgrenze von Lebertumoren signifikant gesenkt

wird. (Hirai K et al., 1991; Schörner W et al., 1991; Matusi O et al., 1989; Muramatsu Y et al., 1991; Kawamura Y et al., 1990).

Die Angiographie ist eine weitere sensitive Methode, auch kleine HCC zu erkennen (Blum HE und Pausch J, 1987). Aus chirurgischer Sicht wird sie für die präoperative Gefäßdarstellung als nützlich, nicht aber als notwendig angesehen. Sie kann in diesem Rahmen zur Dokumentation der variantenreichen Gefäßanatomie herangezogen werden und Gefäßinfiltrationen, vor allem der Pfortader und der V. cava inferior, darstellen (Wils J, 1993; Schaefer C et al., 1995).

Somit stehen mit der Sonographie, der Computertomographie, der Kernspintomographie und der Angiographie zahlreiche bildgebende Verfahren zur Verfügung, die entsprechend ihrer Invasivität und diagnostischen Sensitivität schrittweise und sich ergänzend eingesetzt werden sollten (Schaefer C et al., 1995).

Zur Behandlung des Leberzellkarzinoms stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung: Chirurgisch die Leberteilresektion und die orthotope Lebertransplantation, systemisch die Mono- und Polychemotherapien, lokal die perkutane Ethanolinjektion, die Transarterielle Chemoembolisation und die Strahlentherapie, sowie neuere Therapieansätze wie die Injektion heißer Kochsalzlösung, die Wärmekoagulation oder die perkutane Essigsäureinjektion. Zudem bestehen gentherapeutische Ansätze.

Als potentiell kurative Therapien sind nur die Leberteilresektion und die orthotope Lebertransplantation anzusehen. Für die Leberteilresektion werden Drei-Jahres-Überlebensraten von 75 bis 79 %, Fünf-Jahres-Überlebensraten von 50 bis 53 % und ein rezidivfreies Fünf-Jahres-Überleben in 26 bis 30 % aller Fälle angegeben (Lui WY et al., 1995; Nagashima I et al., 1996; Bruix J et al., 1992; Kawasaki S et al., 1995; Tabaneka K et al., 1996). Die Fünf-Jahres-Überlebensrate liegt nach einer orthotopen Lebertransplantation niedriger und beträgt nur 30 – 40 % (Iwatsuki S et al., 1991; Pichlmayr R et al., 1994).

Die Anwendbarkeit beider Methoden wird aber durch eine perioperative Mortalität von bis zu 20 % eingeschränkt (Lui WY et al., 1995; Nagashima I et al., 1996; Bronowicki JP et al., 1996). Es ist ebenfalls zu bedenken, dass aufgrund zu großer

Tumorausdehnung oder zu geringer Leberreserven nur zehn Prozent der bei Diagnosestellung symptomatischen Patienten einer Leberteilresektion unterzogen werden können (Kosuge T et al., 1993; Belghiti J 1985; The liver cancer Study Group of Japan, 1990; Yamanaka N und Okamoto E, 1989) und dass für eine Lebertransplantation nur wenige Organe zur Verfügung stehen.

Bei HCC- Patienten, die weder einer Leberteilresektion noch der orthotopen Lebertransplantation unterzogen werden können, kommen palliative Methoden zum Zuge.

Bisher gelang es weder mit einer Mono- noch mit einer Polychemotherapie – egal ob allein oder in Kombination mit Interferon – eine signifikante Lebensverlängerung zu erreichen (Cheirsilpa A et al., 1989; Falkson G et al., 1987; Falkson G und Coetzer B, 1988; Lai CL et al., 1988; Thonprasert S et al., 1988). Da auch die Strahlentherapie keine befriedigenden Ergebnisse liefert, richtet sich das Interesse vor allem auf lokale Therapieverfahren wie die perkutane Ethanolinjektion und die Transarterielle Chemoembolisation.

Bei der perkutanen Ethanolinjektion wird ultraschallgesteuert Alkohol in das Tumorgewebe eingebracht, der dort durch Proteindenaturierung Ischämien und dadurch Tumornekrosen auslöst (Sugiura N et al., 1983). Diese Art der Behandlung nützt vor allem Patienten mit einer Leberzirrhose im Child-Pugh-Stadium A, deren Drei-Jahres-Überlebensrate dann zwischen 72 und 76 % liegt (Livraghi T et al., 1992; Livraghi T, 1993; Vilana R et al., 1992). Leider ist der Nutzen dieser Therapie im Child-Pugh-Stadium B deutlich geringer und im Stadium C nicht mehr vorhanden (Livraghi T, 1995; Allgaier HP et al, 1996b).

Bei der Transarteriellen Chemoembolisation (TACE) wird nach transfemoraler Sondierung der Arteria hepatica propria in die entsprechenden Tumorgefäße eine ölige Emulsion, aus Lipiodol<sup>®</sup> und einem Chemotherapeutikum (z.B. Mitomycin C), injiziert. Das Lipiodol<sup>®</sup> reichert sich im Tumorgewebe an. Dadurch liegt auch das in Emulsion mit dem Lipiodol<sup>®</sup> gegebene Chemotherapeutikum in einer höheren Konzentration vor. Beide Substanzen schädigen das Tumorgewebe.

Auch diese Therapie nützt vor allem Patienten im Child-Pugh-Stadium A (Ein-, Zwei- und Drei-Jahres-Überlebenszeiten von 93, 77 und 70 %) und weniger den Patienten im Stadium B. Patienten im Child-Pugh-Stadium C profitieren auch von dieser Therapie nicht (Farinati et al., 1996).

Indiziert ist die Transarterielle Chemoembolisation vor allem bei multiplen Knoten, bei inoperablen Patienten im Okuda-Stadium I und II, einem Bilirubin unter 2,0 mg, fehlendem Aszites und besonders effektiv bei Tumorgrößen unter drei Zentimetern (Yamasaki S et al., 1991). Überdies kommt sie bei lokalen Tumorkomplikationen (z.B. Tumorblutungen oder Gallenwegskompression) in Frage, sie kann aber auch präoperativ zur Tumorverkleinerung eingesetzt werden (Zieren HU und Pichelmaier H, 1991). Allerdings ist der Nutzen dieser neoadjuvanten TACE noch nicht erwiesen. Für eine TACE-Therapie kommen außerdem noch die Child-Pugh-Stadien A und B mit multiplen Läsionen in Betracht, sofern diese weniger als 40 % des Lebergewebes ausmachen (Maier KP, 1995). Behandlungsmethode der Wahl ist die TACE, wenn mehr als drei Tumorherde vorliegen (Huppert PE et al., 1994a).

Eine wiederholte TACE von drei Behandlungen während eines Jahres scheint vor allem für Patienten im Child-Pugh-Stadium A vorteilhaft zu sein. Der Nutzen einer wiederholten Therapie liegt in der Steigerung der lokalen Effekte ohne eine Kumulation der Nebenwirkungen (Huppert et al., 1994b).

Ausschlusskriterien für die Transarterielle Chemoembolisation eines HCC sind Leberzirrhose im Child-Pugh-Stadium C, Ösophagusvarizen Grad drei und vier, portale Hypertension, Tumolvolumen von mehr als 30 bis 40 % des Lebergewebes, extrahepatische Metastasen, Pfortaderthrombosen, Cholinesterase unter 1000 U/l, ein Quick-Wert unter 30 %, Bilirubinwerte über 7 mg%, eine Enzephalopathie, massiver Aszites oder eine schwere Atheromatose (Reinwald H, 1997).

Zu den Nebenwirkungen zählen Fieber, Übelkeit und therapiepflichtige Schmerzen, die in über 50 % der Fälle für 1 bis 3 Tage auftreten. Seltener sind katheterassoziierte Gefäßkomplikationen und Ischämien anderer Organe sowie Magenulzera, Pankreatitis, Ösophagusvarizen, Cholezystitis und Aszites infolge Leberfunktionsverschlechterung (Wallner I et al., 1994; Yamasaki S et al., 1991).

Die bahnbrechende Erkenntnis für alle lokalen Therapieansätze dieser Art kam H.N. Segall im Jahre 1923. Die Lebertumoren werden demnach zu einem sehr großen Teil arteriell versorgt, im Falle des Leberzellkarzinoms sind dies nahezu 80 % (Breedis C und Young G, 1954), während das normale Lebergewebe zu 75 % über die Pfortader ernährt wird. R.D. Wright (1937) bestätigte die Versorgung der Tumorkapillaren durch die Arteria hepatica propria, und Breedis und Young (1954) fanden heraus, dass dieses Verhältnis unabhängig davon ist, ob der Tumor spontan entstand oder experimentell transplantiert wurde. Aus diesem detailliertem Wissen über die hepatische Blutversorgung entwickelten sich neue Therapieverfahren.

Bei der Obduktion eines operierten Tumorpatienten mit ligierter Arteria hepatica propria fanden W. Mori et al. (1966) eine relativ schwache Schädigung des Lebergewebes, während der Tumor starke Gewebeeränderungen und Nekrosen aufwies.

Allerdings wurde nachgewiesen, dass eine reine Ligaturbehandlung zur Behandlung eines HCC nicht ausreicht. Zum einen wirkt die Drosselung des Blutstroms durch die Ligatur nur wenige Tage, da sich schnell Kollateralgefäße bilden, die für die Tumorversorgung ausreichen (Ackermann et. al., 1972), und zum anderen nimmt auch die Ernährung des Tumorgewebes über den portalen Schenkel zu (Taylor et al., 1979).

C.T. Klopp et al. (1950) waren die ersten, die geeignete Zytostatika direkt in die Tumorregion führen konnten. Hierzu wurde ein Katheter mittels Röntgenkontrolle über die Aorta in die Arteria hepatica communis bis in die Arteria hepatica propria vorgeschoben. Eine exaktere Platzierung gelingt nach Laparotomie. Der Katheter wird in die Arteria gastroduodenalis eingeführt und weiter in die Leberarterie vorgeschoben (Watkins E und Sullivan RD, 1964). Bei selektiver arterieller Versorgung der Tumoren ist eine selektive Therapie anzustreben, hierzu sind häufig Mikrokatheter erforderlich.

Die Wahl der Therapeutika bei der lokalen Chemotherapie von Leberzellkarzinomen ist für den Erfolg entscheidend. In dieser Arbeit wird das Antibiotikum Mitomycin C verwendet, welches systemisch gegeben vor allem bei Pankreaskarzinomen indiziert ist. Aber auch in der lokoregionalen Chemotherapie des Leberzellkarzinoms wird

Mitomycin C eingesetzt. Es schädigt nachgewiesenermaßen HCC und seine Wirkung wird durch hypoxische Bedingungen, wie sie bei der TACE erzeugt werden, verstärkt (Atiq OT et al., 1991).

Der zweite Ansatz einer lokalen, über einen in der Arterie gelegenen Katheter durchgeführten Therapie ist die Embolisation des zuführenden Gefäßes. Sie soll, ähnlich der Arterienligatur, eine Ischämie im Tumorgewebe erzeugen und dadurch dessen Wachstum hemmen. Im Gegensatz zur Ligatur kann bei dieser Art der Embolisation in einen Arterienhauptstamm oder in noch kleinere Äste injiziert werden, was zu einem peripheren Gefäßverschluss führt und auch eventuell bestehende Kollateralgefäße mit einbezieht.

Als ölige Substanz steht hierfür Lipiodol<sup>®</sup> zur Verfügung, welches sich selektiv in den Tumoren anreichert. Neben dem antitumoralen Effekt und der temporären Unterbrechung der Blutzufuhr durch Lipiodol<sup>®</sup> erhöht es, wenn es mit einem Chemotherapeutikum kombiniert wird, auch die Verweildauer und die Konzentration des Chemotherapeutikums im Tumorgewebe und erfüllt somit eine Carrierfunktion (Kanematsu T et al., 1990).

Weiterhin besteht die Möglichkeit, mit Mikrosphären die Embolisation der Gefäße durchzuführen. DSM vollzieht diese Gefäßokklusion bei einer Halbwertszeit von etwa 25 Minuten im Serum nur kurz, hat sich aber insbesondere bei der Therapie von Tumoren der Leber bewährt. Des Weiteren wurde festgestellt, dass es die Verweildauer von gleichzeitig gegebenen Chemotherapeutika im Tumorbereich verlängert (Hakansson L, 1995). Neuartige Mikrosphären werden von R. Bartkowski et al. (1997) beschrieben: Diese Poly-Laktid-Co-Glycolid-Mikrosphären verschließen das entsprechende Gefäß nach transarterieller Gabe länger als DSM, und auch die Zytostatikaverweildauer bei gleichzeitiger Gabe eines Chemotherapeutikums ist größer als nach DSM-Applikation.

Lipiodol<sup>®</sup> und Mikrosphären bewirken eine kapilläre Embolisation. Als weitere Embolisate werden Polyvenylalkoholpartikel und Gelfoampartikel appliziert, diese verschließen kleinkalibrige Arterien.

Werden die lokale Chemotherapie und die intraarterielle Embolisation gemeinsam durchgeführt, so spricht man von einer Chemoembolisation. Sie ist der lokalen Chemotherapie überlegen, da der Blutstrom unterbrochen wird und das Chemotherapeutikum folglich länger auf den Tumor einwirken kann. So wird eine hohe lokale Wirkung bei niedriger systemischer Belastung ermöglicht.

Bis heute wurde die Methodik der Transarterielle Chemoembolisation nicht systematisch untersucht. Insbesondere fehlen Vergleichsstudien über die unterschiedliche Effektivität verschiedener Kombinationen aus gefäßokkludierenden Substanzen und Chemotherapeutika. Da das Patientengut für solche Vergleichsstudien relativ klein ist, bietet es sich an, die wirksamsten Kombinationen anhand präklinischer Untersuchungen an einem Tiermodell zu bestimmen.

In der vorliegenden Arbeit sollen daher die verschiedenen Ansätze der TACE und deren Kombinationen hinsichtlich ihrer Wachstumshemmung auf einen chirurgisch implantierten Lebertumor am Tiermodell Ratte verglichen werden. Im einzelnen sind dies:

- Die intraarterielle Applikation eines Zytostatikums (Mitomycin C): Sie bewirkt eine kurzfristige lokale und hochkonzentrierte Zytostase.
- Die intraarterielle Applikation von Carriern (Lipiodol<sup>®</sup>, Mikrosphären): Sie bewirken erstens eine Okklusion von Gefäßen mit einem Durchmesser von 20 - 200 µm.

In Emulsion mit einem Zytostatikum gegeben haben sie zweitens eine Carrierfunktion. Dies bedeutet, dass das Zytostatikum am Ort der Okklusion freigesetzt wird (targeted chemotherapy). Damit wird die Wirkung aufgrund der Hypoxie durch die Okklusion und die hochkonzentrierte und anhaltende lokale Chemotherapie erzielt.

- Die intraarterielle Applikation eines Embolisats: Dies bewirkt eine Okklusion größerer, tumorversorgender Gefäße und wird aus Gründen der Anatomie der Tiere durch eine Ligatur der Arteria hepatica communis simuliert.

Ziel ist es, herauszufinden, inwieweit die Einzelkomponenten das Tumorwachstum im Vergleich mit einer Kontrollgruppe signifikant hemmen, ob eine Wirkungsverstärkung durch eine Zweier- oder Dreierkombination der oben genannten Ansätze auftritt und wenn ja, welche der Kombination die Erfolgreichste ist.

Verwendet wurde das Morris-Hepatom der ACI-Ratte, da es in seinem Wachstumsverhalten dem humanen Hepatozellulären Karzinom sehr ähnlich ist. Die Methode der Chemoembolisation an der ACI-Ratte wurde in Kooperation mit Kollegen der Universität Malmö in Vorversuchen etabliert (Trübenbach J et al., 1996). Die während der Modelletablierung durchgeführten bildgebenden Verfahren Computertomographie, Sonographie, Kernspintomographie und Angiographie zeigten etwa 14 Tage nach Tumorimplantation ein vornehmlich arteriell versorgtes, hypervaskularisiertes Hepatom, das somit die Voraussetzung für einen Einsatz dieses Modells in der TACE erfüllt.

Die Tumorgröße vor und nach Therapie wurde durch Magnetresonanztomographie ermittelt.

## **2. Material und Methodik**

### **2.1. Statistische Planung**

Die Arbeit wurde in zwei Teile, einen Teil A und einen Teil B gegliedert.

Im Teil A wurden zwei Monotherapien verschiedener therapeutischer Konzepte mit einer Kontrollgruppe (Kontrollgruppe K1) verglichen. Hier wurde auch mit einer relativ geringen Anzahl von Versuchstieren festgestellt, dass das Versuchskonzept hinsichtlich der zu bewertenden Parameter aussagekräftig ist.

Im Teil B wurden zwei Monotherapien und die Kombinationstherapien mit einer Kontrollgruppe (Kontrollgruppe K2) verglichen. Um auch in diesem Teil der Arbeit die Anzahl der benötigten Versuchstiere so gering wie möglich zu halten, wurde ein spezielles Schema im Versuchsablauf mit der Hilfe des Instituts für medizinische Informationsverarbeitung der Universität Tübingen erstellt.

Dieser Studienaufbau minimierte die Anzahl der Versuchstiere auf die kleinstmögliche Zahl und sicherte gleichzeitig die Aussagefähigkeit der Studie.

#### **2.1.1 Gruppenzuordnung**

Insgesamt wurden 76 Tiere in zwei Teilen (Teil A und Teil B) der Arbeit der Transarteriellen Chemoembolisation unterzogen.

Im Teil A der Arbeit wurden zwei Therapiegruppen

- Therapiegruppe A: Ligatur-Gruppe
- Therapiegruppe B: Lipiodol<sup>®</sup>-Gruppe

mit einer Kontrollgruppe

- Kontrollgruppe K1

verglichen.

Im Teil B der Arbeit wurden zehn Therapiegruppen

- Therapiegruppe C: Mitomycin C-Gruppe
- Therapiegruppe D: DSM-Gruppe
- Therapiegruppe E: Mitomycin C + DSM-Gruppe

- Therapiegruppe F: Mitomycin C + Ligatur-Gruppe
- Therapiegruppe G: Mitomycin C + Lipiodol<sup>®</sup>-Gruppe
- Therapiegruppe H: Mitomycin C + Lipiodol<sup>®</sup> + Ligatur-Gruppe
- Therapiegruppe I: Mitomycin C + DSM + Ligatur-Gruppe
- Therapiegruppe J: Mitomycin C + Poly-Lactid-Co-Glycolid-Mikrosphären-Gruppe
- Therapiegruppe L: DSM + Ligatur-Gruppe
- Therapiegruppe M: Lipiodol<sup>®</sup> + Ligatur-Gruppe

mit einer Kontrollgruppe

- Kontrollgruppe K2

verglichen.

Die vor Versuchsbeginn durchgeführte Fallzahlbestimmung ergab eine Mindestanzahl von vier Tieren pro Therapie- und Kontrollgruppe, um eine statistisch belegte Aussage treffen zu können. Aufgrund der Annahme, pro Gruppe würde höchstens ein Tier nicht auszuwerten sein, wurden in jeder Therapie- und Kontrollgruppe fünf Tiere behandelt.

Zum Zeitpunkt der Studienplanung schien es aus logistischen Gründen nur möglich zu sein, an einem Tag vier Tiere zu operieren.

Damit das Tumorwachstum zwischen den einzelnen Tumoren vergleichbar bleibt, konnte die Operationen nur an drei aufeinanderfolgenden Tagen (= drei Untergruppen) durchgeführt werden. Insgesamt sollten also jeweils 12 Tiere (an drei aufeinanderfolgenden Tagen je vier Tiere) behandelt werden, die zu einer Therapierihe zusammengefasst wurden. Eine Therapierihe sollte also aus 12 behandelten Tieren bestehen, die ihren implantierten Tumor vom selben Muttertumor erhalten. Jeder dieser sechs Therapierihen wurde zusätzlich ein Ersatztier zugeordnet. Diese Tiere hatten den Zweck, Tiere, die gegebenenfalls während oder nach der Tumorimplantation bis zur eigentlichen Therapiedurchführung (siehe unten) verstarben oder Tiere, bei denen der implantierte Tumor nicht angewachsen ist, zu ersetzen.

Bei der Durchführung des Teils A der Arbeit stellte sich heraus, dass es möglich war, pro Tag bis zu sechs Tiere zu operieren. Es erschien daher sinnvoll, den Versuchsplan wie folgt aufzustellen.

Im ersten Teil der Arbeit wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen (Untergruppen I, II, III) je fünf Tiere operiert. Diese 15 Tiere bilden die Therapiereihe R1.

**Tabelle 6: Zuordnung der Tiere im Teil A zu den Untergruppen der Reihe R1. Jeder Buchstabe steht für ein Tier der jeweiligen Therapiegruppe/Kontrollgruppe.**

| Therapie-Reihe | Untergruppe | Therapien      |
|----------------|-------------|----------------|
| R1             | I           | A A A A A      |
|                | II          | K1 K1 K1 K1 K1 |
|                | III         | B B B B B      |

Die 55 Tiere des Teils B der Arbeit wurden mittels einer Zufallstabelle (Cochran WG und Cox GM, 1957) auf 14 Untergruppen verteilt. Aufgrund logistischer Randbedingungen wurde ein inkomplettes Blockdesign mit diesen 14 Untergruppen (Reihen R2 bis R5 je mit den Untergruppen I, II und III, Reihe R6 mit den Untergruppen I und II) à vier Tiere (Reihe R6: drei Tiere) entwickelt.

Um diesen Plan weitgehend beizubehalten, wurden in Teil B der Arbeit pro Tag (= Untergruppe) nicht vier, sondern sechs Tiere operiert. Dadurch enthielt jetzt jede Therapiereihe zwei Untergruppen. Dies hatte den Vorteil, dass der Unterschied in der Wachstumszeit der Tumoren geringer war als in der ursprünglichen Planung, die statistische Auswertung aber nicht beeinflusst wurde. Es ergab sich folgender Versuchsablauf:

**Tabelle 7: Zuordnung der Tiere im Teil B der Arbeit zu den Untergruppen (I, II) der Reihen R2 bis R6. Jeder Buchstabe steht für ein Tier der jeweiligen Therapiegruppe/Kontrollgruppe.**

| Therapie-Reihe | Untergruppe | Therapien    |
|----------------|-------------|--------------|
| R2             | I           | C G L D H E  |
|                | II          | E K2 I F D M |
| R3             | I           | G J F C L D  |
|                | II          | G H H M E I  |
| R4             | I           | I K2 F J L G |
|                | II          | C J H D L M  |
| R5             | I           | M E I K2 C J |
|                | II          | F K2 C G D L |
| R6             | I           | I F J K2 E H |
|                | II          | L            |

### 2.1.2. Statistische Analyse

Die beiden Therapiegruppen des Teils A der Arbeit wurden mit der Kontrollgruppe K1 verglichen. Alle untersuchten Tumoren stammten vom gleichen Muttertumor (Reihe R1, siehe unten) ab. Die Tiere wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen der Transarteriellen Chemoembolisation unterzogen, so dass ein Vergleich der Tumolvolumina gewährleistet war. Der Therapieplan ist in Tabelle 8 (Seite 26) wiedergegeben. Aufgrund der Verteilung der Daten wurden diese logarithmisch transformiert. Als Zielvariable wurde die Differenz der Logarithmen des Tumolvolumens vor und vierzehn Tage nach der Transarteriellen Chemoembolisation gewählt ( $\log(\text{MR2}) - \log(\text{MR1})$ ). Zur Erfassung eines Wachstumsunterschiedes wurden diese Werte mittels des Microsoft Office Programms Excel (Version 8.0) mit einem Student-t-Test verglichen.

Nach der Auswertung des Teils A der Arbeit wurde der Teil B der Arbeit mit Unterstützung des Instituts für Medizinische Informationsverarbeitung geplant. Die zehn Therapiegruppen des Teils B der Arbeit wurden mit der Kontrollgruppe K2 verglichen.

Die durchgeführte Fallzahlbestimmung aus den Ergebnissen des Teils A der Arbeit ergab, dass mindestens vier Tiere pro Therapiegruppe und in der Kontrollgruppe benötigt wurden. Aufgrund der logistischen Randbedingungen wurde ein inkomplettes Blockdesign entwickelt. Schließlich ergaben sich fünf Reihen (R2 bis R6), in denen jeweils ein Muttertumor verwendet wurde. Jede dieser Reihen enthielt zwei Untergruppen (I und II), da es nicht möglich war, alle Tiere einer Reihe an einem Tag der Transarteriellen Chemotherapie zu unterziehen. Der Therapieplan ist in Tabelle 9 (Seite 27) wiedergegeben.

Das Tumolvolumen vor der Operation (MR1) entsprach in der statistischen Analyse der Baseline (Volumen MR1).

Aufgrund der Verteilung der Daten wurden die erhaltenen Werte logarithmisch transformiert. Die Zielvariable im Teil B der Arbeit ist der Logarithmus des Tumolvolumens vierzehn Tage nach der Transarteriellen Chemoembolisation ( $\log(\text{MR2})$ ).

Mit den erhaltenen Werten wurde zunächst eine Kovarianzanalyse mit dem Faktor Embolisationsart (10mal Verum, 1mal Kontrolle), dem Blockfaktor Muttertumor und der Kovariablen "Tumorvolumen vor Embolisation" durchgeführt.

Nach dem Nachweis eines signifikanten Einflusses der Embolisation auf das Tumorwachstum wurde im zweiten Schritt mit einem einseitigen t-Test nach Dunnet (Signifikanzniveau: 5%) analysiert, bei welchen der Therapiegruppen sich das Tumorwachstum gegenüber der Kontrollgruppe signifikant verlangsamt hatte.

Die Berechnungen wurden mit dem Programm SAS 6.11 for Windows (Proc GLM) durchgeführt.

## 2.2. Versuchsablauf

Ziel des Versuchs war es, eine mögliche hemmende Wirkung der Monotherapien auf das Tumorwachstum im Vergleich zu einer Kontrollgruppe und eine Wirkungsverstärkung durch Kombination der Verfahren zu beweisen sowie die erfolgsversprechendste Kombination zu finden.

Der Versuch gliederte sich in folgende Schritte:

- Aufarbeitung der kryokonservierten Tumorzellen
- Züchten eines Spendertumors (Muttertumors) in einem Spendertier
- Entnahme des Spendertumors und Tumorimplantation (TuIm) in die Tiere der Therapie- und Kontrollgruppen
- Erste Kernspintomographie (MR1) zur Tumorgrößenbestimmung vor Therapie
- Transarterielle Therapie (TACE)
- Zweite Kernspintomographie (MR2) zur Tumorgrößenbestimmung nach Therapie

Nach der Aufarbeitung der kryokonservierten Tumorzellen wurden dem Spendertier, in dem der Muttertumor für eine Therapiereihe gezüchtet wurde,  $5 \times 10^5$  in physiologischer Kochsalzlösung befindliche Zellen am Rücken subkutan injiziert (siehe 2.5.1.).

Nach zehn Tagen erreichte dieser Muttertumor eine Größe von etwa einem Kubikzentimeter. Der Tumor wurde dem Spendertier chirurgisch entnommen. Aus nekrosefreien Arealen des Muttertumors wurden etwa ein Kubikmillimeter große Stücke geschnitten und den Tieren der Therapie- und Kontrollgruppen unter die Leberkapsel chirurgisch eingepflanzt (siehe 2.5.2). Alle Tiere einer Therapiereihe erhielten folglich Tumoren des selben Muttertumors.

In Teil A der Arbeit folgte eine erste Kernspinuntersuchung (MR1) je nach Untergruppe (UG) an den Tagen zwölf (UG I), dreizehn (UG II) oder vierzehn (UG III) nach der Tumorimplantation, wodurch ein Tumor nachgewiesen und dessen Größe bestimmt werden konnte (siehe 2.9.).

Einen Tag später, also an den Tagen dreizehn (UG I), vierzehn (UG II) bzw. fünfzehn (UG III) nach Tumorimplantation, wurde den Tieren ein Katheter in die Arteria

gastroduodenalis eingebracht (siehe 2.7.) und die entsprechende Therapie durchgeführt (2.8.).

Vierzehn Tage nach dieser Operation wurde an den Tagen 27 (UG I), 28 (UG II) und 29 (UG III) nach Tumorimplantation zur Beurteilung des Tumorwachstums eine zweite Kernspinaufnahme (MR2) der Tiere erstellt (2.9.). Nach dieser zweiten Kernspununtersuchung wurden die Tiere durch intrakardiale Injektion von T61 (Höchst Veterinär GmbH, Unterschleißheim) getötet.

Die folgende Tabelle gibt den Versuchsablauf für die Tiere im Teil A der Arbeit wieder.

**Tabelle 8: Versuchsablauf Teil A**

**Die Tabelle enthält die Tage nach Tumorimplantation, an welchen der entsprechende Eingriff an Tieren der Untergruppen I bis III der Reihe R1 stattgefunden hat. Tag TuIm: Tag der Tumorimplantation; Tag MR1: Tag der ersten Kernspununtersuchung (MR1); Tag OP: Tag der Therapiedurchführung; Tag MR2: Tag der zweiten Kernspununtersuchung (MR2); Therapien: Die Therapien, die in den jeweiligen Untergruppen vorgenommen wurden.**

| Therapie Reihe | Untergruppe | Tag TuIm | Tag MR1 | Tag OP | Tag MR2 | Therapien       |
|----------------|-------------|----------|---------|--------|---------|-----------------|
| R1             | I           | 0        | 12      | 13     | 27      | 5 X Ligatur     |
|                | II          | 0        | 13      | 14     | 28      | 5 X Kontrolle 1 |
|                | III         | 0        | 14      | 15     | 29      | 5 X Lipiodol®   |

In Teil B der Arbeit folgte die erste Kernspununtersuchung (MR1) je nach Untergruppe (UG) an den Tagen zwölf (UG I) oder dreizehn (UG II) nach Tumorimplantation.

Einen Tag später, also an den Tagen dreizehn (UG I) und vierzehn (UG II) nach Tumorimplantation, wurde den Tieren ein Katheter in die Arteria gastroduodenalis eingeführt (2.7.) und die jeweilige Therapie durchgeführt (2.8.).

Vierzehn Tage nach dieser Operation, an den Tagen 27 (UG I) oder 28 (UG II) nach Tumorimplantation wurde eine zweite Kernspinaufnahme (MR2) der Tiere erstellt, um das Tumorwachstum zu beurteilen (2.9.). Nach dieser zweiten Kernspununtersuchung wurden die Tiere durch intrakardiale Injektion von T61 (Höchst Veterinär GmbH, Unterschleißheim) getötet.

Die folgende Tabelle gibt den Versuchsablauf für die Tiere im Teil B der Arbeit wieder.

**Tabelle 9: Versuchsablauf Teil B**

Die Tabelle gibt die Tage nach Tumorimplantation an, an welchen der entsprechende Eingriff an Tieren der Untergruppen I und II der Reihen R2 bis R6 stattgefunden hat. Tag TuIm: Tag der Tumorimplantation; Tag MR1: Tag der ersten Kernspinnuntersuchung (MR1); Tag OP: Tag der Kathetereinführung in die A. gastroduodenalis; Tag MR2: Tag der zweiten Kernspinnuntersuchung (MR2); Therapien: Die Therapien, die in den jeweiligen Untergruppen vorgenommen wurden.

| Therapie-Reihe | Untergruppe | Tag TuIm | Tag MR1 | Tag OP | Tag MR2 | Therapien     |
|----------------|-------------|----------|---------|--------|---------|---------------|
| R2             | I           | 0        | 12      | 13     | 27      | C G L D H E   |
|                | II          | 0        | 13      | 14     | 28      | E K 2 I F D M |
| R3             | I           | 0        | 12      | 13     | 27      | G J F C L D   |
|                | II          | 0        | 13      | 14     | 28      | G H H M E I   |
| R4             | I           | 0        | 12      | 13     | 27      | I K 2 F J L G |
|                | II          | 0        | 13      | 14     | 28      | C J H D L M   |
| R5             | I           | 0        | 12      | 13     | 27      | M E I K 2 C J |
|                | II          | 0        | 13      | 14     | 28      | F K 2 C G D L |
| R6             | I           | 0        | 12      | 13     | 27      | I F J K 2 E H |
|                | II          | 0        | 13      | 14     | 28      | L             |

Anschließend wurden von jedem Tier die Kernspinaufnahmen vor (MR1) und nach (MR2) der Therapie miteinander verglichen und die statistische Auswertung durchgeführt (2.1.2.).

## 2.3. Medikamente

### 2.3.1. Carrier

Die eingesetzten Carrier dienen dem Transport des Zytostatikums und einer reversiblen Embolisation tumorversorgender Gefäße. Diese tritt entweder peripher oder zentral auf.

#### 2.3.1.1. Lipiodol®

Das jodierte Mohnöl Lipiodol® (Byk Gulden, Konstanz) wird bei der Lymphographie als Kontrastmittel verwendet (Mutschler E und Schäfer-Korting M, 1996).

Seit Mitte der achtziger Jahre wird diese Substanz auch zur lokalen Embolisation in der Therapie des Leberzellkarzinoms eingesetzt (Konno T et al., 1985). Es verschließt die

Gefäße bei einer Tröpfchengröße von 40 bis 200 µm peripher (Huppert PE et al., 1994a). Außer dieser gefäßverschießenden besitzt es eine eigene tumorschädigende Wirkung (Allgaier HP et al., 1996). Das Lipiodol® reichert sich im Tumorgewebe an, wodurch auch ein in Emulsion gegebenes Zytostatikum, das in dieser Applikationsform für mehrere Stunden an den Carrier gebunden ist, im Tumorgewebe angereichert wird (Okamura J et al., 1992).

Die Dosierung orientiert sich bei der klinischen Anwendung an der Tumorgröße und liegt zwischen 5 und 20 ml pro Behandlung. Uchida et al. (1993) empfehlen die Gabe eines Lipiodol®-Volumens in Millilitern etwa äquivalent dem Tumordurchmesser in Zentimetern.

Nakao et al. (1992) haben in einer klinischen Studie die Wirksamkeit von Lipiodol® beim Einsatz in der transarteriellen Therapie nachgewiesen. Sie fanden eine signifikant längere Überlebenszeit, wenn einer Gelfoam-Embolisation zentraler Arterien eine Lipiodol®-Injektion vorausgeht.

Es ist davon auszugehen, dass die Kombination von Lipiodol® mit einem Zytostatikum die Effektivität weiter erhöht (Kawai S et al., 1992).

### **2.3.1.2. DSM**

DSM (degradable starch microspheres) sind Stärke-Mikrosphären, deren Größe verändert werden kann. Ihre Wirkung auf Tumoren wurde in verschiedenen Organen erprobt, doch scheinen Lebertumoren besonders gut auf eine Gefäßokklusion mit DSM zu reagieren (Hakansson L, 1995). Bei einem Durchmesser von etwa 45 µm wird eine Okklusion der Arteriolen herbeigeführt. Die zu applizierende Dosis liegt beim Menschen zwischen 100 mg und 3000 mg (Hakansson L, 1995). Als Nebenwirkungen, die nie länger als zwei bis vier Stunden andauerten, wurden in der Literatur vorübergehende Oberbauchschmerzen, Übelkeit und Erbrechen beschrieben.

In der Regel ist eine Dosis bis 900 mg unbedenklich. Bei höheren Dosierungen wurden auch respiratorische Störungen angegeben, die dadurch erklärt werden, dass DSM-Partikel über arterio-venöse Shunts in die Lungenstrombahn gelangen. Aber auch diese

Nebenwirkungen, sowie gelegentlich auftretendes Fieber oder eine leichte Leukozytose, bestanden höchstens wenige Tage. Bei einer zu hohen Dosis und einer zu schnellen Applikation besteht die Gefahr eines Rückflusses von DSM in andere Organe, z.B. in Gefäße des Duodenums. Insbesondere in Kombination mit einem Zytostatikum kann dies zu einer Schädigung des betreffenden Organs führen (Gunnarsson K. und Nilsson B, 1995).

Stärke-Mikrosphären werden von der im Serum vorhandenen Alpha Amylase abgebaut. In vitro durchgeführte Versuche ergaben eine Halbwertszeit von etwa 25 Minuten, menschliche Gefäße bleiben bis zu einer Stunde lang verschlossen (Tuma RF, 1984).

In der Regel wird DSM mit einem Zytostatikum kombiniert (5-Fluoruracil, Mitomycin C, Doxorubicin etc.). Hierbei ermöglicht DSM durch den temporären Gefäßverschluss ein längeres Einwirken des parallel applizierten Zytostatikums. Insbesondere für Mitomycin C ist anzunehmen, dass die optimale Einwirkdauer auf das Tumorgewebe ähnlich groß der Okklusionsdauer ist (Hakansson L, 1995). Ferner konnte gezeigt werden, dass die systemische Belastung durch das Zytostatikum bei einer transarteriellen Gabe mit DSM um 20 bis 50 % geringer ist als bei einer Verabreichung ohne DSM (Hakansson L, 1995).

Der klinische Erfolg einer kombinierten lokalen Therapie mit DSM und einem Zytostatikum ist mit einer Ansprechrate zwischen 30 und 91 % gegeben (Taguchi T und Khayat D, 1995). Im Durchschnitt überleben Patienten mit einer solchen Therapie länger als bei gleicher Therapie ohne DSM (Taguchi T et al., 1992).

### **2.3.1.3. Poly-Laktid-Co-Glycolid-Mikrosphären**

Poly-Laktid-Co-Glycolid-Mikrosphären sind eine neue Klasse von Embolisationspartikeln, die mit unterschiedlichen Zytostatika beladen werden können. Die kontinuierliche Abgabe der Zytostatika kann durch technologische Verfahren beeinflusst werden. Es stehen verschiedene Partikelgrößen zur Verfügung. Bartkowski et al. (1997) zeigen, dass sich Partikel einer Größe von 40 µm vor allem im Randbereich eines in eine Rattenleber implantierten Tumors anreichern. Kleinere Partikel fanden sich vermehrt in den zentralen Tumorregionen. Zudem waren sie regelmäßig in Lunge und

Milz aufzufinden, was bei den Größeren selten war. Aus diesen Gründen verwendeten wir PLCG-Mikrosphären einer Größe von 40 µm.

Außer als Carrier für Chemotherapeutika werden Poly-Laktid-Co-Glycolid-Mikrosphären als Carrier für verschiedene Proteine eingesetzt (Sanchez A et al., 1999; Suarez S et al., 2001)

### **2.3.2. Ligatur der Arteria hepatica propria**

Die Ligatur der A. hepatica propria simuliert die Embolisation großer tumorversorgender Arterien.

Eine Substanz, die bei intraarterieller Applikation die größeren Gefäße über lange Zeit verschließt, ist Gelfoam. Leider konnte es in dieser Arbeit nicht verwendet werden, da es durch die dünnen Katheter, die im Tiermodell verwendet werden mussten, nicht appliziert werden konnte.

Dennoch sollte untersucht werden, welchen Einfluss eine Unterbrechung der Blutzufuhr schon in der Arteria hepatica communis auf das Tumorwachstum hat. In der humanen Anwendung entspricht dies der Embolisation zentraler Lebergefäße. Daher wurde eine Ligatur um die Arteria hepatica communis gelegt und so die zentrale Embolisation durch Gelfoam simuliert. Schon Mori et al. beschrieben 1966 ihre Erkenntnisse über eine solche Therapievariante. Da sich hierbei aber innerhalb weniger Tage Kollateralen bilden und die Versorgung eines Lebertumors über die Pfortader zunimmt (Ackermann NB et al., 1972; Taylor I et al., 1979), wird dieses Verfahren ohne eine weitere Therapie heute nicht mehr angewendet.

### **2.3.3. Mitomycin C als Substanz zur lokalen Chemotherapie**

Als Chemotherapeutikum wurde Mitomycin C (medac GmbH, Hamburg) verwendet. Dieses zytostatisch wirkende Antibiotikum wird aus Kulturen von *Streptomyces caespitosus novum species* isoliert und hemmt das Tumorwachstum durch Alkylierung der DNA und durch die Bildung freier Radikale. Die Verknüpfung der DNA-Stränge erfolgt spezifisch in der Sequenz CpG (Tomasz M, 1995). Der Stoff muss im Körper metabolisch aktiviert werden, wodurch ein bifunktionelles Alkylans entsteht.

Mitomycin C wird überwiegend metabolisch inaktiviert und rasch eliminiert (Forth W et al., 1992).

Systemisch gegeben wird es insbesondere zur Behandlung des Pankreaskarzinoms verwendet (Mutschler E und Schäfer-Korting M, 1996).

Wird Mitomycin C in der transarteriellen Therapie des HCC eingesetzt, so wird es in der Regel mit Lipiodol® und/oder anderen Chemotherapeutika kombiniert, da es unter hypoxischen Bedingungen wirksamer ist. Seine Wirksamkeit ist mehrfach beschrieben (Belli L et al., 1997; Iwamiya T et al., 1994).

Nebenwirkungen von Mitomycin C können Übelkeit und Erbrechen, eine mikroangiopathische hämolytische Anämie oder eine Niereninsuffizienz sein. Selten treten Stomatitis, hepatotoxische oder lungentoxische Nebenwirkungen auf.

## **2.4. Versuchstiere**

Um verwertbare Erkenntnisse aus den Tierexperimenten ziehen zu können, muss ein Modell gewählt werden, das leicht und sicher durchzuführen ist und sich reproduzieren lässt. Überdies sollte vom Tiermodell auf den Menschen geschlossen werden können.

Als Tierart wurde die Ratte gewählt, da sowohl eine Tumorimplantation als auch eine Katheterisierung der Arteria gastroduodenalis bereits an Ratten beschrieben wurde (Yang R et al., 1992; Trübenbach J et al., 1996; Teder H et al., 1985; Teder H et al., 1987). Da für ACI-Ratten mit dem Morris-Hepatom 3924A ein geeignetes Lebertumormodell vorliegt (siehe 2.5.), wurde diese Spezies verwendet.

Alle Tiere wurden von der Firma Harlan-Winkelmann (Borchen) bezogen. Nach Ankunft in Tübingen hatten sie ausreichend Zeit (mindestens 14 Tage), sich an die neue Umgebung zu gewöhnen und sich vom Transport zu erholen. Zu Versuchsbeginn waren die Tiere zwischen 35 und 83 Tage alt und besaßen ein Körpergewicht von  $230 \pm 30$  g.

Die Tierhaltung erfolgte in Doppelkäfigen unter folgenden Bedingungen:

- Raumtemperatur: 21°C
- relative Luftfeuchtigkeit: 53 %
- 12-stündlicher Hell-Dunkel-Rhythmus

- Nahrung: Ratten/Mäuse Diät (Ssmiff Spezialdiäten GmbH, Soest)
- freie Trinkwasserverfügung

Die Tiere wurden täglich kontrolliert und standen unter regelmäßiger veterinärmedizinischer Überwachung. Nach Versuchsende wurden alle Tiere der Therapie- und Kontrollgruppen und die Ersatztiere in Narkose durch eine intrakardiale Injektion von einem Milliliter T61 (Höchst Veterinär GmbH, Unterschleißheim) getötet.

Es wurden insgesamt 82 Versuchstiere benötigt:

- in zwölf Therapiegruppen à fünf Tieren zusammen 60 Tiere
- in zwei Kontrollgruppen à fünf Tieren zusammen 10 Tiere
- in sechs Therapiereihen je ein Spendertier zusammen 6 Tiere
- in sechs Therapiereihen je ein Ersatztier zusammen 6 Tiere

## **2.5. Tumormodell**

### **2.5.1. Aufarbeitung der Tumorzellen und Züchten des Spendertumors**

Als Tumormodell wurde das Morris-Hepatom 3924A, ein von Morris 1951 in ACI-Ratten chemisch induzierter Lebertumor, verwendet. Es ist dem humanen Hepatozellulären Karzinom im Wachstumsverhalten sehr ähnlich, weist nur eine geringe Metastasierungstendenz auf (Morris HP und Slaughter LJ, 1978) und zeigte sich in eigenen Vorversuchen angiographisch weitgehend durch die Arteria hepatica propria versorgt.

Die Hepatomzellen wurden aus der Tumorbank der DKFZ Heidelberg kryokonserviert bezogen. Nach dem Auftauen bei 37°C wurden die Zellen in DMEM (Doulbeccos Modified Eagle medium, Serum-med, Berlin) mit 5 % fötalem Kälberserum (FCS) bei 37°C kultiviert. Nach Trypsinierung wurden die Zellen einmal in DMEM mit 5 % FCS gewaschen und anschließend in physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert.

Den Spendertieren wurden mit einer 19 G Kanüle  $5 \times 10^5$  Tumorzellen in 0,5 ml NaCl am Rücken subkutan injiziert.

Nach zehn Tagen erreichte der subkutane Tumor einen Durchmesser von etwa einem Zentimeter.

### **2.5.2. Tumorimplantation**

Der Spendertumor wurde dem Spendertier nach Intrapertonealnarkose (siehe 2.6.) chirurgisch entnommen, das Spendertier anschließend mit CO<sub>2</sub> getötet.

Aus einem nekrosefreien Areal dieses Tumors wurden danach etwa ein Kubikmillimeter große Stücke präpariert. Diese wurden bis zur Tumorimplantation in physiologischer Kochsalzlösung (Fresenius AG, Homburg) aufbewahrt.

Den Versuchstieren der entsprechenden Therapiereihe wurde anschließend je eines dieser Tumorstückchen mittels einer leicht modifizierten Form der bereits etablierten Technik nach Yang R et al. (1992) subkapsulär im Lobus sinister der Leber implantiert.

Hierzu wurden die Tiere nach Intrapertonealnarkose (siehe 2.6.) am Bauch rasiert und die Haut anschließend desinfiziert. Durch eine mediane Laparotomie vom Xiphoid aus etwa einen Zentimeter kaudalwärts wurde der Bauchraum geöffnet und der linke Leberlappen dargestellt (siehe Abb. 1). Mit einem Einmalskalpell (Firma Paragon, Größe 11) wurde nun ein Schnitt in die Leberkapsel gesetzt, wobei darauf geachtet wurde, das Lebergewebe nicht zu verletzen. Anschließend wurde eine kleine, etwa drei Millimeter tiefe Tasche geformt, indem das Skalpell unter die Leberkapsel geschoben wurde (Pocket-Methode). Nach kurzem Druck mit einem Watteträger auf diese Stelle wurde eines der vorbereiteten Tumorgewebestücke mit einer Mikropinzette in diese Tasche zwischen Leberkapsel und Lebergewebe plziert.

Nach Rückverlagerung des Leberlappens wurden das Peritoneum und die Muskulatur in einer fortlaufenden Naht und die Haut in Einzelstichnähten verschlossen (5/0, 45 cm, geflochten Polygalactin 910, resorbierbar, Vicryl<sup>®</sup>, Firma Ethicon, Norderstedt).

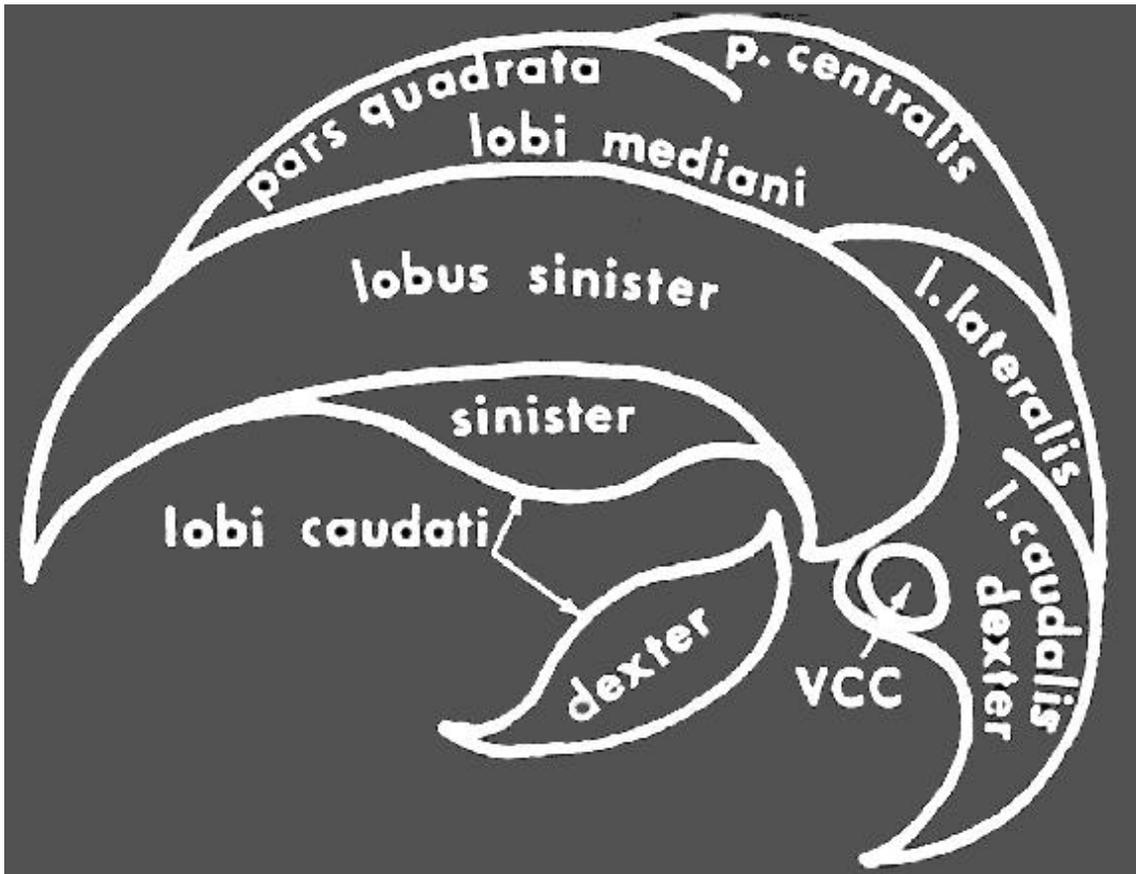


Abbildung 1: Schema der Leberanatomie der Ratte. Die Tumoren werden in den Lobus sinister eingesetzt. (Gershbein LL, Elias H, 1954)

## 2.6. Narkose

Vor allen operativen Eingriffen (Tumorimplantation, transarterielle Therapie) und vor der Durchführung der Kernspinuntersuchungen erhielt jedes Tier eine Intraperitonealnarkose. Diese bestand aus einem Gemisch aus 80 mg/kg KG Ketaminhydrochlorid (Ketanest 10 %<sup>®</sup>, Parke-Davis GmbH, Berlin), 12 mg/kg KG Xylazinhydrochlorid (Rompun 2 %<sup>®</sup>, Bayer AG Leverkusen) und 0,16 mg/kg KG Atropinsulfat (Atropinsulfat Braun 0,5 %<sup>®</sup>, Braun Melsungen AG, Melsungen).

## 2.7. Katheterisierung der Arteria gastroduodenalis

Zur Applikation der verschiedenen Substanzen und Substanzkombinationen wurde die Arteria gastroduodenalis nach Laparotomie katheterisiert.

Die Öffnung des Bauchraums erfolgte nach dieser Methode vom Xiphoid aus durch eine mediane Laparotomie von ungefähr zwei Zentimetern Länge. Sofern sich seit der Tumorimplantation Verwachsungen gebildet hatten, wurden diese gelöst. Um einen besseren Zugang zum Operationsgebiet zu erhalten, wurden nun die Ligamenta gastroduodenalis et hepaticum durchtrennt, anschließend das Duodenum angeschlungen, nach kaudal verlagert und mit einer in Kochsalzlösung getränkten Kompresse bedeckt. Dadurch spannte sich das Ligamentum hepatoduodenale auf, so dass die Arteria gastroduodenalis präpariert werden konnte. Zur Präparierung und zur anschließenden Katheterisierung wurde ein Operationsmikroskop (M651, Leica GmbH, Solms) zu Hilfe genommen.

Die Arteria gastroduodenalis wurde von ihrer distalen Aufzweigung in die Arteriae pancreaticoduodenalis et gastroepiploica dextra ausgehend bis zu ihrem Ursprung aus der Arteria hepatica communis freigelegt.

Gleiches erfolgt mit der Arteria hepatica communis ausgehend von ihrer Aufzweigung in die Arteriae gastroduodenalis et hepatica propria zentralwärts auf einer Länge von ungefähr vier Millimetern.

Um die präparierte Arteria gastroduodenalis wurden zwei Seidenfäden (5/0, Firma Braun, Melsungen) gelegt. Mit dem weiter distal gelegenen Faden wurde die Arteria gastroduodenalis vor ihrer Aufzweigung in die Arteriae pancreaticoduodenalis et gastroepiploica dextra ligiert, um eine retrograde Blutung in den Bauchraum nach Entfernen des Katheters zu verhindern. Der zentral gelegene Faden diente später der Katheterfixierung und nach der Applikation einer Ligatur der Arteria gastroduodenalis an ihrem Ursprung, um auch hier einen Blutaustritt zu vermeiden.

Ein weiterer Faden wurde um die Arteria hepatica communis geschlungen. Dieser diente der vorübergehenden Okklusion des Gefäßes während der Applikation der Substanzen, indem an ihm gezogen und so ein Rückfluss in die Arteria hepatica communis und Arteria lienalis verhindert wurde. Sofern in einer Therapiegruppe auch eine Ligatur vorgesehen war, wurde jener Faden auch zur Ligatur der Arteria hepatica communis verwendet.



- A Leber
  - a Lobus sinister lateralis
  - b Processus papillaris, und
  - c pars inferiaporalis des
  - Zwischenlappens
  - d Lobus dexter
  - e Processus caudatus
  - f Ductus hepaticus
- B Pankreas
  - g Ductus pancreaticus
- C Duodenum
- D Jejunum
- F Ileum
- G Caecum
- H Colon ascendens
- I rechte Niere
- J Milz
- K rechtes Ovar
- 1 A. celiaca
- 2 A. und V. lienalis
- 3 A. gastrica sinister
- 4 A. hepatica
- 5 A. u. V. gastroduodenalis
- 6 Pfortader
- 7 V. cava inferior
- 8 rechte V. renalis
- 9 Ganglion celiacum

Abbildung 2: Topographie der Peritonealhöhle der Ratte. (modifiziert nach Hebel R und Stromberg MW, 1976)

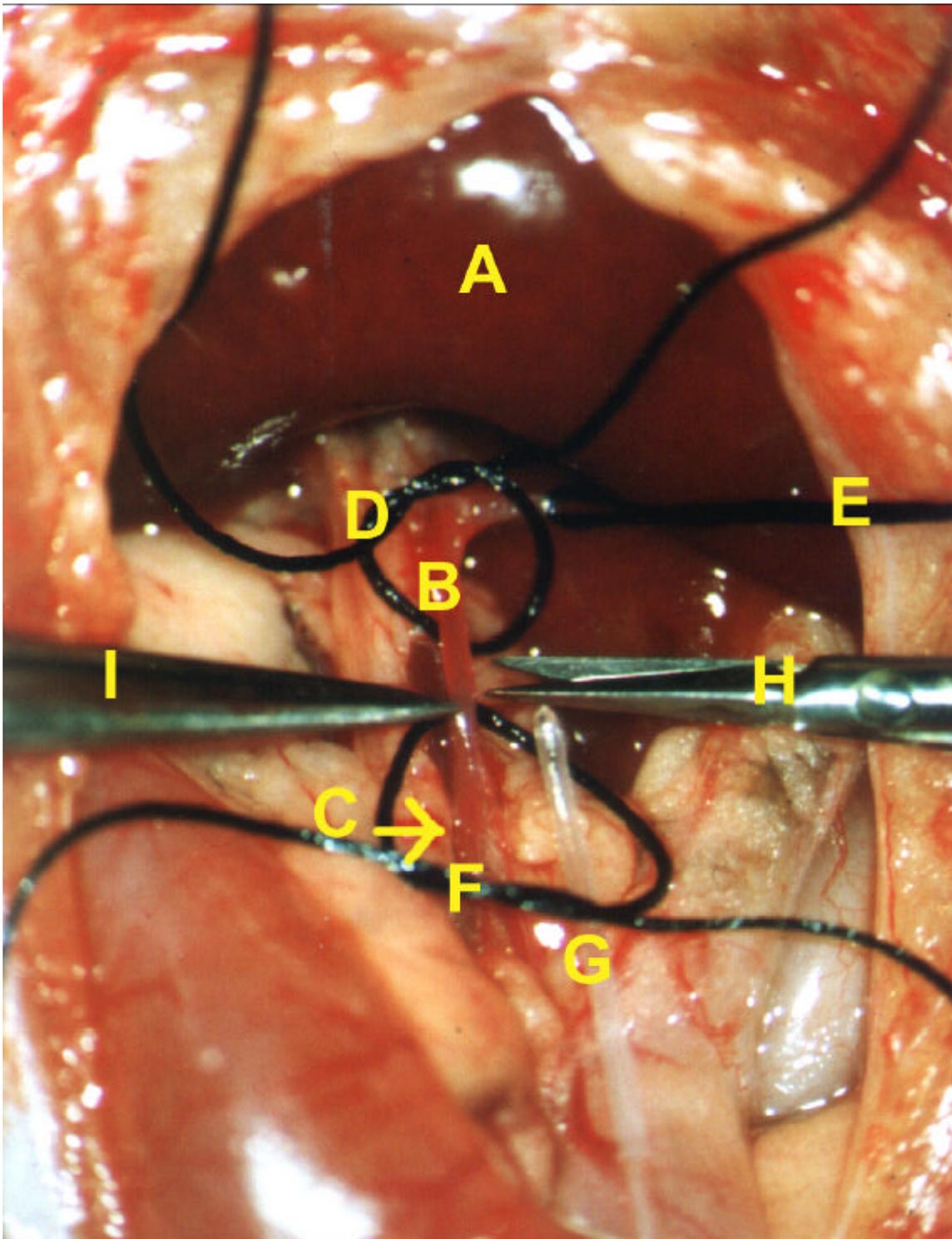


Abbildung 3: Intraoperativer Rattensitus. A: Leber, B: A. gastroduodenalis, C: Schnitt in der A. gastroduodenalis, D: proximaler Faden um die A. gastroduodenalis, E: Faden um die A. hepatica communis, F: distaler Faden um die A. gastroduodenalis, G: Katheter, H: Mikroschere, I: Pinzette

Nach diesen vorbereitenden Maßnahmen wurde bei 40-facher Vergrößerung die Inzision in die Arteria gastroduodenalis in einem Winkel von ungefähr 35 Grad mit einer Mikroschere (85 mm, gerade, Firma Aesculap AG & Co KG, Tuttlingen) gesetzt. In die Öffnung konnte ein vorbereiteter Katheter (Polythene Tubing, ID: 0,28, AD: 0,61 mm) retrograd eingeführt, bis zur Bifurkation vorgeschoben und anschließend mit dem dort vorbereiteten Faden fixiert werden. Das zweite Ende des Katheters war mit einer Kanüle der Größe 0,4 X 20 mm und einer darauf befestigten zwei Milliliterspritze bestückt. Dieses System wurde vor seiner Platzierung entlüftet und mit einer isotonen Kochsalzlösung gefüllt. Ein Anspritzen der Arteria gastroduodenalis mit dieser Kochsalzlösung zeigte die richtige Lage, die Durchgängigkeit und die Dichtigkeit an der Einführungsstelle des Katheters an.

## **2.8. Therapiedurchführung**

Sind die Voraussetzungen eines dichten und durchgängigen Katheters erfüllt, kann die Spritze gewechselt und die gewünschte Substanz, bzw. das Substanzgemisch, appliziert werden. Auch hierbei muss der korrekte Fluss durch das Mikroskop verfolgt werden. Um sicher zu gehen, dass die gesamte Menge der Substanzen die Leber und den Lebertumor erreicht haben, wurden im Anschluss an jede Therapie ca. 0,05 ml isotoner Kochsalzlösung nachgespritzt. Dann wurde der Katheter entfernt und der zentral gelegene Faden um die Arteria gastroduodenalis festgezogen und verknotet. Nach zurückverlagern von Magen und Darm in ihre alte Position, konnten das Peritoneum und die Muskulatur mit einer fortlaufenden Naht und die Haut in Einzelstichnähten mit einem Faden (5/0, 45 cm, geflochten, Vicryl®) verschlossen werden.

### **2.8.1. Ligatur der Arteria hepatica propria (Gruppe A)**

Bei den Tieren der Ligatur-Gruppe wurde die Katheterisierung wie oben beschrieben bis zur Lageüberprüfung des Katheters durchgeführt, dann aber der Katheter wieder entfernt. Der vorbereitete, um die Arteria hepatica propria gelegte Faden wurde anschließend verknotet und somit die Ligatur der Arterie vollzogen.

### **2.8.2. Lipiodol®-Applikation (Gruppe B)**

Die mit isotoner Kochsalzlösung gefüllte Spritze wurde durch eine mit 0,1 ml Lipiodol® gefüllten Ein-Milliliterspritze ersetzt und in ungefähr 15 Sekunden wurden 0,04 ml Lipiodol® appliziert.

### **2.8.3. Mitomycin C-Applikation (Gruppe C)**

Zehn Milligramm der Mitomycin C-Trockensubstanz wurden in acht Millilitern isotoner Kochsalzlösung gelöst. Die zu applizierende Dosis betrug in dieser und in jeder Gruppe, die Mitomycin C als Bestandteil enthielt, 0,04 ml des Gemischs, entsprechend 0,05 mg Mitomycin C-Trockensubstanz. Eine Ein-Milliliterspritze, gefüllt mit 0,1 ml Lösung, wurde auf die Kanüle des Katheters gesetzt und 0,04 ml wurden in ungefähr 15 Sekunden appliziert.

### **2.8.4. DSM-Applikation (Gruppe D)**

Zur Herstellung der benötigten Lösung wurden zwei Milliliter DSM mit 18 ml isotoner Kochsalzlösung gemischt. Die zu applizierende Dosis wurde auf neun Milligramm festgesetzt, was 1,5 ml Suspension entspricht. Diese Menge wurde innerhalb von drei bis fünf Minuten appliziert. Durch kontinuierliches Schwenken der Spritze konnte ein Sedimentieren der Mikrosphären verhindert werden.

### **2.8.5. Mitomycin C + DSM-Applikation (Gruppe E)**

Zu 1,5 ml der vorbereiteten und unter 2.8.4. beschriebenen DSM-Lösung wurden 0,04 ml der unter 2.8.3. beschriebenen Mitomycin C-Suspension zugegeben. Dieses Gemisch wurde innerhalb von drei bis fünf Minuten appliziert.

#### **2.8.6. Mitomycin C + Ligatur-Behandlung (Gruppe F)**

0,04 ml der oben beschriebenen Mitomycin C-Suspension wurden innerhalb von ca. 15 Sekunden appliziert, anschließend die Arteria hepatica communis ligiert.

#### **2.8.7. Mitomycin C + Lipiodol®-Applikation (Gruppe G)**

Ein Milliliter Mitomycin C-Suspension und ein Milliliter Lipiodol® wurden über einen Drei-Wege-Hahn gemischt, indem diese Mischung 40 Mal in zwei am Drei-Wege-Hahn befestigte Zwei-Milliliterspritzen gespritzt wurde. Kurz vor der Applikation wurden in eine Ein-Milliliterspritze 0,1 ml der Mischung aufgezogen und davon innerhalb weniger Sekunden 0,08 ml gespritzt.

#### **2.8.8. Mitomycin C + Lipiodol® + Ligatur-Behandlung (Gruppe H)**

Auch die Tiere dieser Gruppe erhielten eine Applikation von 0,08 ml der unter 2.8.7. beschriebenen Suspension aus Mitomycin C und Lipiodol®. Nach der Katheterentfernung wurde die benötigte Ligatur der Arteria hepatica communis vorgenommen.

#### **2.8.9. Mitomycin C + DSM + Ligatur-Behandlung (Gruppe I)**

Wie unter 2.8.5. beschrieben, wurde ein Gemisch aus 1,5 ml DSM und 0,04 ml Mitomycin C-Suspension hergestellt und appliziert. Die Ligatur der Arteria hepatica communis erfolgte wie in den anderen Gruppen auch hier nach dem Entfernen des Katheters.

### **2.8.10. Mitomycin C + Poly-Laktid-Co-Glycolid-Mikrosphären-Applikation (Gruppe J)**

0,2 g der Poly-Laktid-Co-Glykolid-Mikrosphären wurden in 10 ml NaCl gelöst, davon 2 ml (= 40 mg) mit 0,04 ml Mitomycin C (= 0,05 mg) gemischt und dieses Gemisch appliziert.

### **2.8.11. DSM + Ligatur-Behandlung (Gruppe L)**

Von der unter 2.8.4. beschriebenen DSM-Lösung wurden 1,5 ml appliziert. Nach Katheterentfernung wurde die Arteria hepatica propria ligiert.

### **2.8.12. Lipiodol<sup>®</sup> + Ligatur-Behandlung (Gruppe M)**

Nachdem 0,04 ml Lipiodol<sup>®</sup> in die Arteria gastroduodenalis injiziert worden waren, konnte nach Entfernen des Katheters die Ligatur der Arteria hepatica communis vorgenommen werden.

### **2.8.13. Kontrollgruppen (Gruppen K1 und K2)**

Es wurden 1,5 ml einer isotonen Kochsalzlösung (Fresenius AG, Homburg) innerhalb etwa einer Minute in die Arteria gastroduodenalis appliziert.

## **2.9. Bildgebung und Berechnung des Tumolvolumens**

Zur Bestimmung der Tumorgöße wurden an jedem Tier zwei Kernspinuntersuchungen durchgeführt, die erste am Tag vor der Transarteriellen Chemoembolisation (MR1), die zweite 14 Tage nach der Therapiedurchführung (MR2).

Nach dem Anfertigen einer Übersichtsaufnahme wurde von jedem Tier eine T1 und eine T2 gewichtete Aufnahme der Leber in transversaler Ebene erstellt. Anschließend wurden die Tumoren auf den Bildern vermessen und die Bilder gespeichert.

Verwendet wurde ein Magnetom Expert (Firma Siemens, Erlangen) mit 1,0 Tesla Feldstärke, das mit einer Augenspule (13 cm x 13 cm) bestückt wurde.

Es wurden jeweils 13 Schnittbilder (Slices) mit einer Pixelgröße von 0,66 x 0,49 mm<sup>2</sup> angefertigt. Die Schichtdicke betrug zwei Millimeter.

Weitere Daten und Einstellungen:

T1-Wichtung: TR/TE: 400/14 ms

T2-Wichtung: TR/TE: 3000/96 ms

Akquisitionszeiten: T1-Wichtung: 5 Minuten und 10 Sekunden

T2-Wichtung: 6 Minuten und 7 Sekunden

Matrix: 192 x 256

Zur Berechnung des Tumolvolumens wurde der größte Tumordurchmesser  $d_1$  und der zu diesem senkrecht stehende Durchmesser  $d_2$  bestimmt. Unter der Annahme einer ellipsoiden Tumorgeometrie kann das Tumolvolumen  $V$  nach der Formel

$V = 0,5 \times d_1 \times d_2^2$  (Carlsson G et al. 1983) hinreichend genau bestimmt werden.

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1. Nicht in die Wertung eingegangene Tiere**

Insgesamt wurden 76 Tieren Tumoren unter die Leberkapsel implantiert: Zehn Tieren in den zwei Kontrollgruppen, 60 Tieren in den zwölf Therapiegruppen und sechs Ersatztieren (pro Therapierihe einem Ersatztier).

Von diesen 76 implantierten Tumoren wuchsen drei (3,9 %) nicht an, einer in der Reihe R1, Untergruppe II, Therapiegruppe A: Ligatur (Tier Nr. 6), einer in der Reihe R3, Untergruppe II, Therapiegruppe E: Mitomycin + DSM (Tier Nr. 28), einer in der Reihe R4, Untergruppe II, Therapiegruppe C (Tier Nr. 18).

Bei der Tumorimplantation starben zwei Tiere (2,6 %), und zwar in der Reihe R1 während der Operation selbst (bei der Narkose wurde ein Gefäß verletzt) und in der Reihe R2 wenige Tage nach der Tumorimplantation. Diese beiden Tiere wurden durch Ersatztiere der Reihen R1 und R2 ersetzt.

Acht Tiere (10,5 %) starben während oder nach der Therapiedurchführung. Zwei dieser Tiere, die während der Operation starben, konnten durch Ersatztiere ersetzt werden, da bei ihnen noch keine Substanzen appliziert worden waren und sie somit noch keiner Therapiegruppe angehörten (Reihe R3, Untergruppe I, Therapiegruppe F, Tier Nr. 32 und Reihe R5, Untergruppe II, Therapiegruppe G, Tier Nr. 40). Die anderen Tiere konnten nicht ersetzt werden, da in der entsprechenden Reihe kein Ersatztier mehr zur Verfügung stand oder das Tier erst in den Tagen nach der Operation starb.

In zwei der Therapierihen verstarb weder ein Tier zwischen Tumorimplantation und Zuordnung zu einer Gruppe (Therapiedurchführung) noch wuchs ein implantiertes Tumor nicht an. Somit konnten die beiden Ersatztiere dieser Therapierihen jeweils der Kontrollgruppe K2 zugeordnet werden, die damit aus sieben statt fünf Tieren bestand.

Sowohl im Teil A als auch im Teil B der Arbeit konnten in jeder Gruppe mindestens vier Tiere ausgewertet werden.

### 3.2. Ergebnisse aus Teil A der Arbeit

Im Teil A der Arbeit wurden die Therapiegruppen Ligatur (A) und Lipiodol (B) mit der Kontrollgruppe K1 verglichen.

Aufgrund der Verteilung der Daten wurden die Tumorstadien vor der statistischen Auswertung logarithmisch transformiert.

In der folgenden Tabelle sind die durchschnittlichen Tumorstadien für die jeweilige Gruppe vor (MR1) und 14 Tage nach (MR2) Therapie, deren logarithmierten Werte, die Zielvariable  $\log(\text{MR2}) - \log(\text{MR1})$ , der Quotient der Tumorstadien nach und vor Therapie ( $\text{Volumen MR2} / \text{Volumen MR1}$ ) und die entsprechenden Standardabweichungen aufgelistet.

**Tabelle 10: Tumorstadien und Berechnungen des Teils A**

Die Mittelwerte (MW) der Tumorstadien vor (MR1) und nach (MR2) Therapie, die entsprechenden logarithmierten Werte, die Zielvariable ( $\log(\text{MR2}) - \log(\text{MR1})$ ), die Differenz der Tumorstadien 14 Tage nach und vor Therapie und die entsprechenden Standardabweichungen (Std.abw.) in den jeweiligen Therapiegruppen sind für die Gruppen des Teils A der Arbeit wiedergegeben.

| Gruppe        | Anzahl der Tiere | MW (Std.abw.) MR1  | MW (Std.abw.) $\log(\text{MR1})$ | MW (Std.abw.) MR2  | MW (Std.abw.) $\log(\text{MR2})$ | MW (Std.abw.) $\log(\text{MR2}) - \log(\text{MR1})$ | Durchschnitt (Std.abw.) MR2 - MR1 |
|---------------|------------------|--------------------|----------------------------------|--------------------|----------------------------------|---|-----------------------------------|
| K1: Kontrolle | 4                | 0,0287<br>(0,0124) | - 3,6404<br>(0,4946)             | 0,5985<br>(0,3369) | - 0,7161<br>(0,8412)             | 2,8301<br>(0,9373)                                  | 0,5671<br>(0,3322)                |
| A: Ligatur    | 4                | 0,0330<br>(0,0185) | - 3,5340<br>(0,5748)             | 0,273<br>(0,1290)  | - 1,3917<br>(0,5101)             | 2,1423<br>(0,6585)                                  | 0,2400<br>(0,1247)                |
| B: Lipiodol®  | 5                | 0,0678<br>(0,0463) | - 2,8589<br>(0,6326)             | 1,0586<br>(0,6775) | - 0,1556<br>(0,7983)             | 2,7033<br>(0,4080)                                  | 0,9908<br>(0,6334)                |

Die folgenden Abbildungen geben das Tumorstadium vor (MR1) und nach (MR2) Therapie der Tiere der Gruppen des Teils A der Arbeit wieder. Die Beschriftung (Zahlen) geben die Tiernummern an:

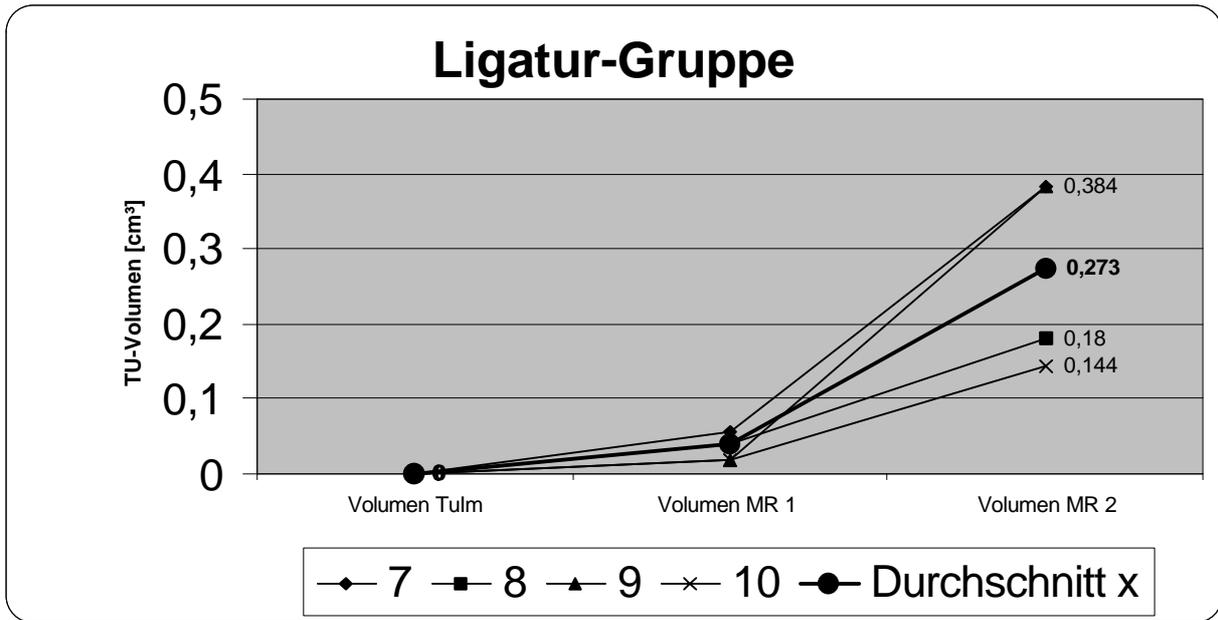


Abbildung 4: Die Tumolvolumina der Gruppe A: Ligatur-Gruppe zum Zeitpunkt der Tumorimplantation (Volumen TuIm), des Kernspins am Tag vor Therapie (Volumen MR1) und des Kernspins 14 Tage nach Therapie (Volumen MR2) sind nach Tiernummern getrennt dargestellt. Durchschnitt x: Mittelwert der Tumolvolumina.

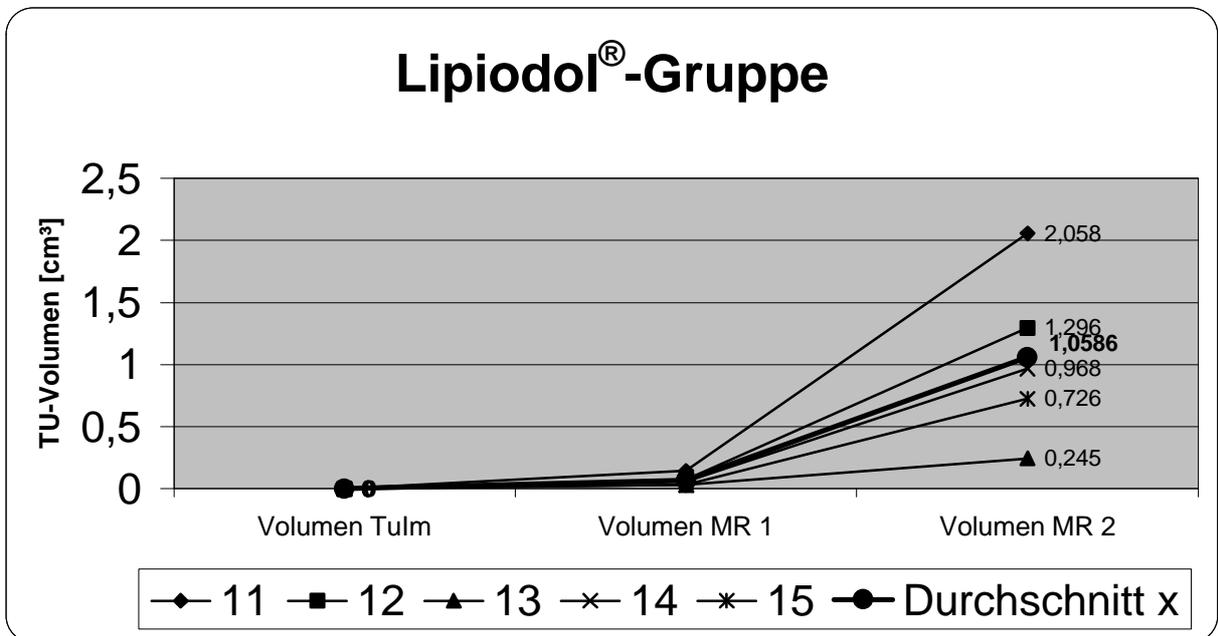


Abbildung 5: Die Tumolvolumina der Gruppe B: Lipiodol<sup>®</sup>-Gruppe zum Zeitpunkt der Tumorimplantation (Volumen TuIm), des Kernspins am Tag vor Therapie (Volumen MR1) und des Kernspins 14 Tage nach Therapie (Volumen MR2) sind nach Tiernummern getrennt dargestellt. Durchschnitt x: Mittelwert der Tumolvolumina.

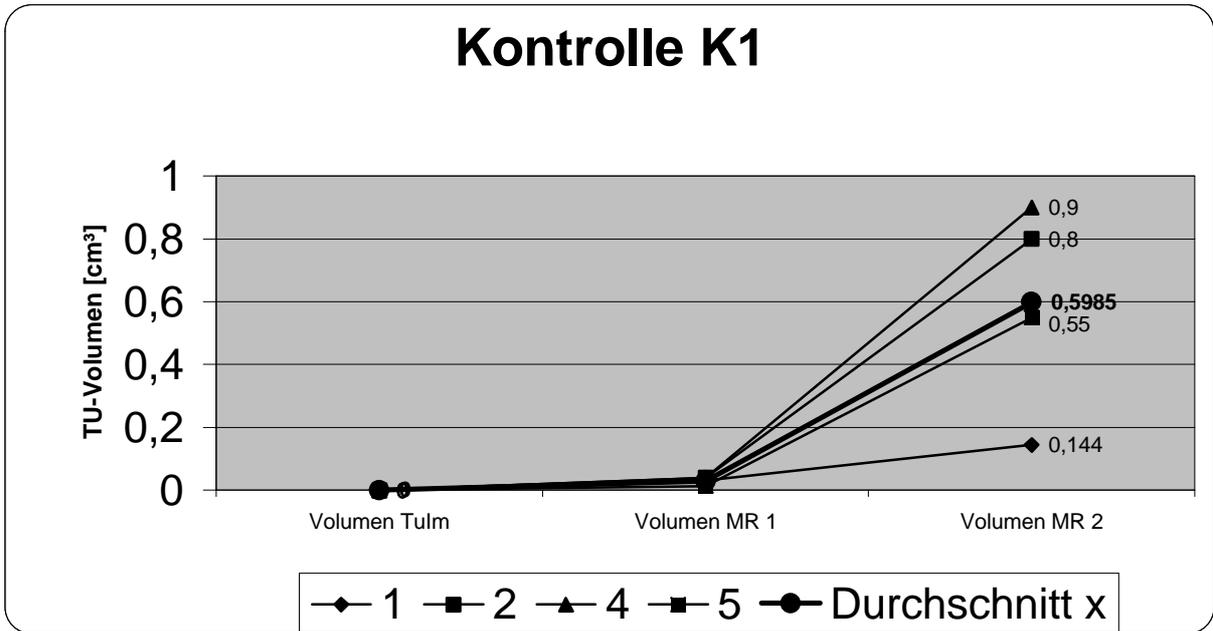


Abbildung 6: Die Tumolvolumina der Gruppe K1: Kontrollgruppe K1 zum Zeitpunkt der Tumorimplantation (Volumen TuIm), des Kernspins am Tag vor Therapie (Volumen MR1) und des Kernspins 14 Tage nach Therapie (Volumen MR2) sind nach Tiernummern getrennt dargestellt. Durchschnitt x: Mittelwert der Tumolvolumina.

Im folgenden Diagramm sind die Durchschnittswerte der Zielvariablen ( $\log(\text{MR2}) - \log(\text{MR1})$ ) der einzelnen Therapiegruppen und der Kontrollgruppe K1 dargestellt.

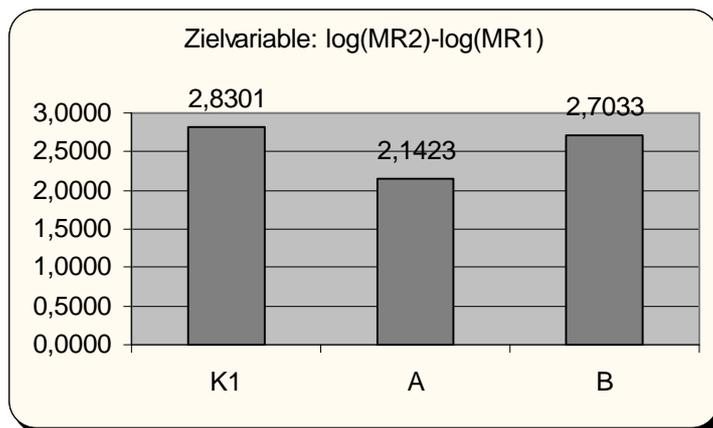


Abbildung 7: Darstellung der Zielvariablen ( $\log(\text{MR2}) - \log(\text{MR1})$ ) des Teils A der Arbeit. Angegeben sind die Werte der jeweiligen Gruppen (A bis K1).

In keiner dieser beiden Therapiegruppen wurde das Tumorwachstum vollkommen gehemmt.

Mit dem Microsoft Office Programm „Excel“ (Version 8.0) wurde ein einseitiger Student-t-Test durchgeführt, der ein langsames Wachstum in einer Therapiegruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe untersuchte.

Dieser ergab für die Ligatur-Gruppe (Gruppe A) einen Wert von  $p = 0,140$ , für die Lipiodol<sup>®</sup>-Gruppe (Gruppe B) einen Wert von  $p = 0,407$ .

Somit fand in der Therapiegruppe A und der Therapiegruppe B ein nur minimal verlangsamtes Wachstum im Vergleich zur Kontrollgruppe K1 statt.

### **3.3. Ergebnisse aus Teil B der Arbeit**

Im zweiten Teil der Arbeit wurden die Therapiegruppen Mitomycin C-Gruppe (C), DSM-Gruppe (D), Mitomycin C + DSM-Gruppe (E), Mitomycin C + Ligatur-Gruppe (F), Mitomycin C + Lipiodol<sup>®</sup>-Gruppe (G), Mitomycin C + Lipiodol<sup>®</sup> + Ligatur-Gruppe (H), Mitomycin C + DSM + Ligatur-Gruppe (I), Mitomycin C + Poly-Lactid-Co-Glycolid-Mikrosphären (J), DSM + Ligatur-Gruppe (L), Lipiodol<sup>®</sup> + Ligatur-Gruppe (M) untereinander und mit der Kontrollgruppe K2 verglichen.

Aufgrund der Verteilung der Daten wurden die Tumorumfänge vor der statistischen Auswertung logarithmisch transformiert.

In der folgenden Tabelle sind die durchschnittlichen Tumorumfänge für die jeweiligen Therapiegruppen und die Kontrollgruppe vor (MR1) und nach (MR2) Therapie, die Mittelwerte der logarithmierten Werte des Tumorumfanges vor ( $\log(\text{MR1})$ ) und nach ( $\log(\text{MR2})$ ) Therapie, die Differenz der Tumorumfänge vor und nach Therapie (Volumen MR2 - Volumen MR1) und die entsprechenden Standardabweichungen aufgeführt.

**Tabelle 11: Tumorumfängen und Berechnungen des Teils B**

Die Mittelwerte (MW) der Tumorumfängen vor (MR1) und nach (MR2) Therapie, die Mittelwerte der logarithmierten Werte der Tumorumfängen vor (log(MR1)) und nach Therapie (log(MR2)), der Durchschnitt der Volumendifferenz (MR2 - MR1) und die entsprechenden Standardabweichungen (Std.abw.) in den jeweiligen Therapiegruppen und der Kontrollgruppe K2 sind für die Gruppen des Teils B der Arbeit angegeben.

| Gruppe | Zahl der Tiere | MW (Std.abw.) MR1  | MW (Std.abw.) log(MR1) | MW (Std.abw.) MR2  | MW (Std.abw.) log(MR2) | MW (Std.abw.) MR2 - MR1 |
|--------|----------------|--------------------|------------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|
| C      | 4              | 0,0549<br>(0,0490) | -3,2036<br>(0,9120)    | 0,1836<br>(0,1398) | -1,905<br>(0,750)      | 0,1287<br>(0,097)       |
| D      | 4              | 0,0318<br>(0,0330) | -3,6534<br>(1,3817)    | 0,2743<br>(0,2144) | -1,970<br>(1,803)      | 0,2425<br>(0,185)       |
| E      | 4              | 0,0091<br>(0,0080) | -5,1879<br>(1,3189)    | 0,9588<br>(1,0050) | -0,886<br>(1,715)      | 0,9497<br>(0,998)       |
| F      | 5              | 0,0419<br>(0,0327) | -3,5641<br>(1,1150)    | 0,1351<br>(0,0770) | -2,178<br>(0,717)      | 0,0932<br>(0,074)       |
| G      | 5              | 0,0279<br>(0,0227) | -3,9526<br>(1,0694)    | 0,1120<br>(0,0997) | -2,782<br>(1,410)      | 0,0841<br>(0,083)       |
| H      | 4              | 0,0191<br>(0,0116) | -4,3805<br>(0,8925)    | 0,0401<br>(0,0182) | -3,307<br>(0,518)      | 0,0210<br>(0,020)       |
| I      | 4              | 0,0279<br>(0,0141) | -3,7555<br>(0,5038)    | 0,1395<br>(0,1498) | -2,707<br>(1,730)      | 0,1116<br>(0,160)       |
| J      | 4              | 0,0975<br>(0,0341) | -2,7153<br>(0,8205)    | 0,2300<br>(0,2966) | 2,734<br>(2,194)       | 0,1325<br>(0,304)       |
| L      | 4              | 0,0424<br>(0,0148) | -3,0825<br>(0,4049)    | 0,1315<br>(0,0747) | -2,142<br>(0,545)      | 0,0891<br>(0,081)       |
| M      | 4              | 0,0223<br>(0,0228) | -4,1827<br>(0,8073)    | 0,1568<br>(0,1438) | -2,544<br>(1,775)      | 0,1345<br>(0,146)       |
| K2     | 7              | 0,0964<br>(0,1146) | -2,9050<br>(1,1170)    | 1,3468<br>(1,3089) | -0,092<br>(0,981)      | 1,2504<br>(1,295)       |

Die folgenden Abbildungen geben das Tumorumfangen vor (MR1) und nach (MR2) Therapie der Tiere der Gruppen des Teils B der Arbeit wieder:

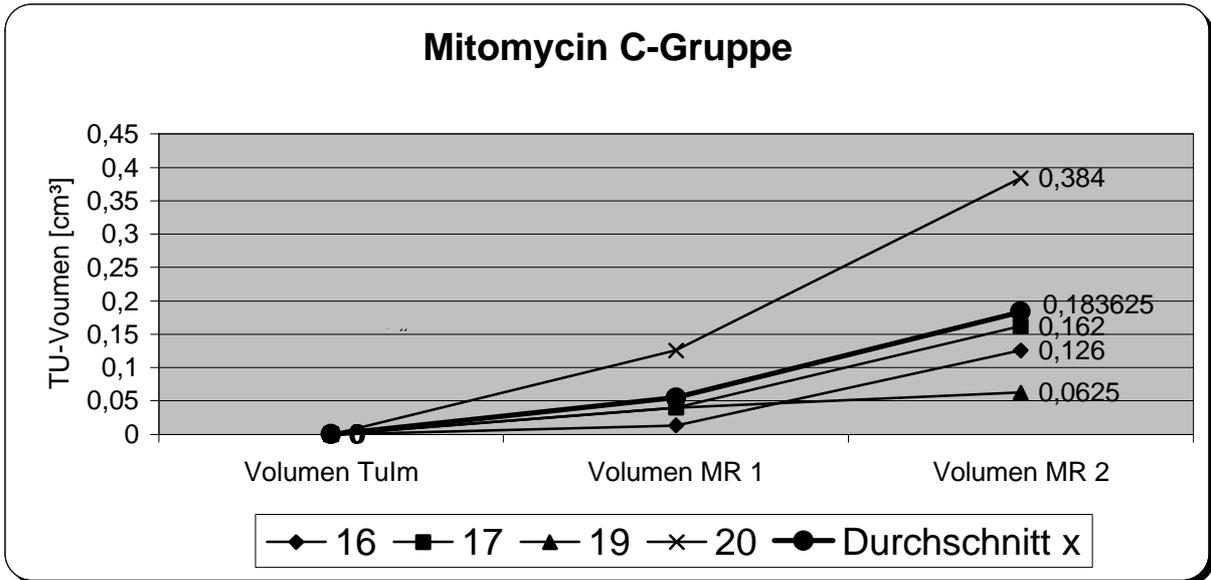


Abbildung 8: Die Tumervolumina der Gruppe C: Mitomycin C-Gruppe zum Zeitpunkt der Tumorimplantation (Volumen TuIm), des Kernspins am Tag vor Therapie (Volumen MR1) und des Kernspins 14 Tage nach Therapie (Volumen MR2) sind nach Tiernummern getrennt dargestellt. Durchschnitt x: Mittelwert der Tumervolumina.

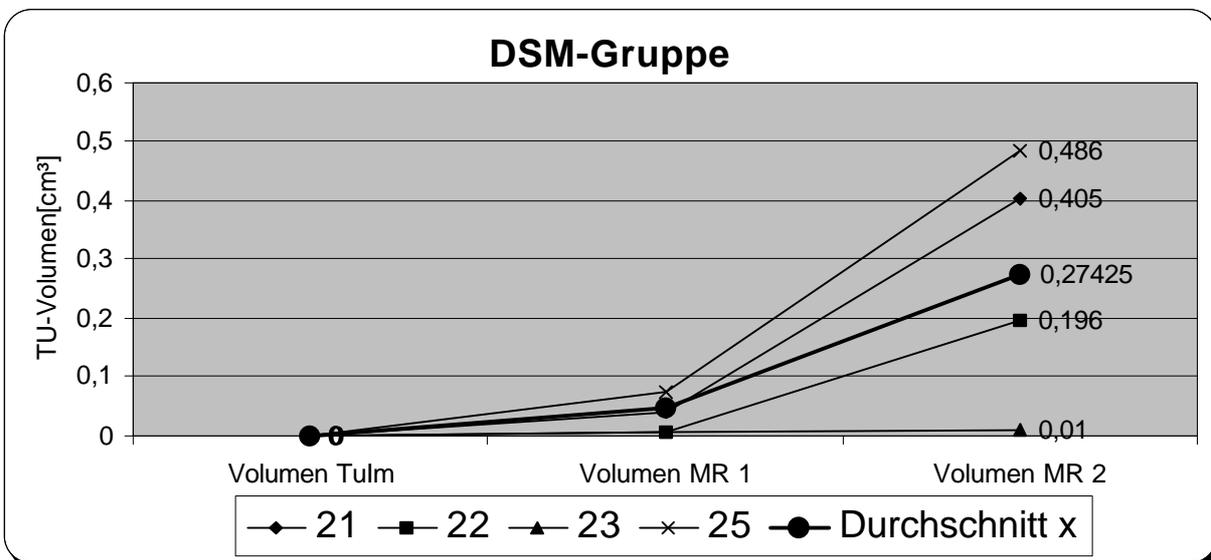


Abbildung 9: Die Tumervolumina der Gruppe D: DSM-Gruppe zum Zeitpunkt der Tumorimplantation (Volumen TuIm), des Kernspins am Tag vor Therapie (Volumen MR1) und des Kernspins 14 Tage nach Therapie (Volumen MR2) sind nach Tiernummern getrennt dargestellt. Durchschnitt x: Mittelwert der Tumervolumina.

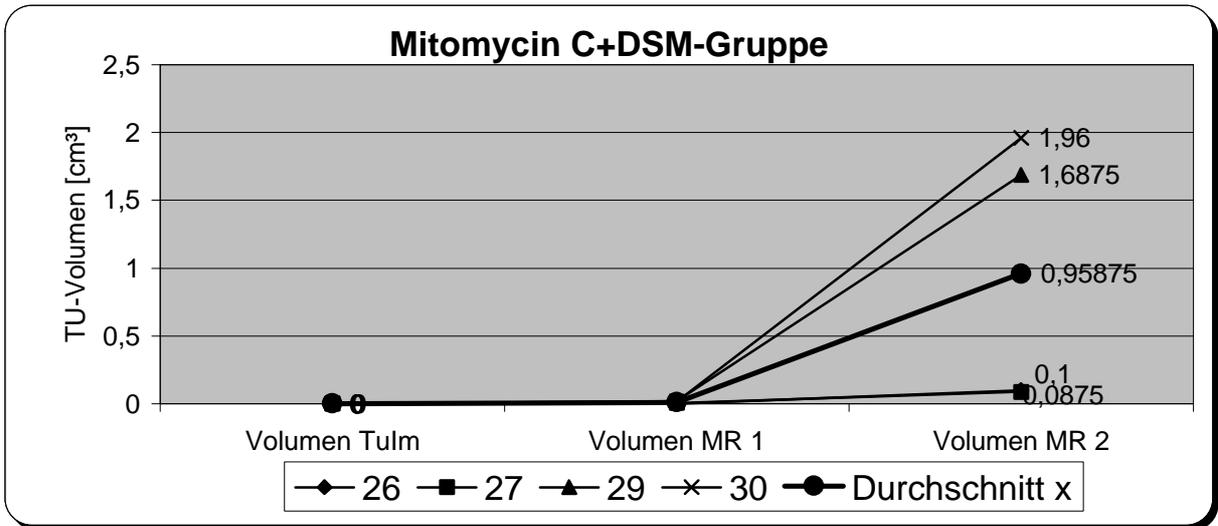


Abbildung 10: Die Tumervolumina der Gruppe E: Mitomycin C + DSM-Gruppe zum Zeitpunkt der Tumorimplantation (Volumen TuIm), des Kernspins am Tag vor Therapie (Volumen MR1) und des Kernspins 14 Tage nach Therapie (Volumen MR2) sind nach Tiernummern getrennt dargestellt. Durchschnitt x: Mittelwert der Tumervolumina.

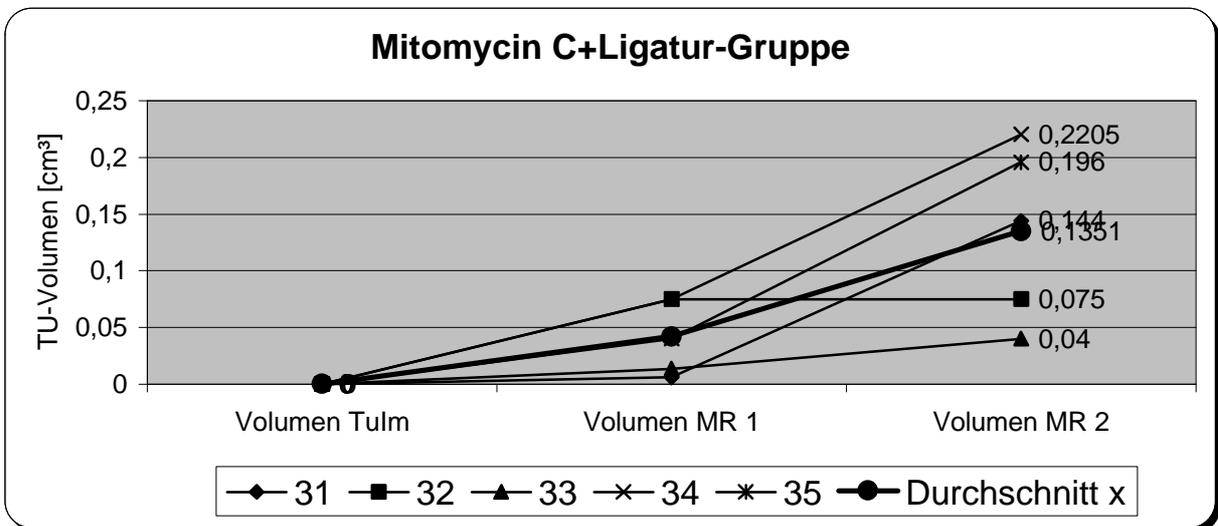


Abbildung 11: Die Tumervolumina der Gruppe F: Mitomycin C + DSM + Ligatur-Gruppe zum Zeitpunkt der Tumorimplantation (Volumen TuIm), des Kernspins am Tag vor Therapie (Volumen MR1) und des Kernspins 14 Tage nach Therapie (Volumen MR2) sind nach Tiernummern getrennt dargestellt. Durchschnitt x: Mittelwert der Tumervolumina.

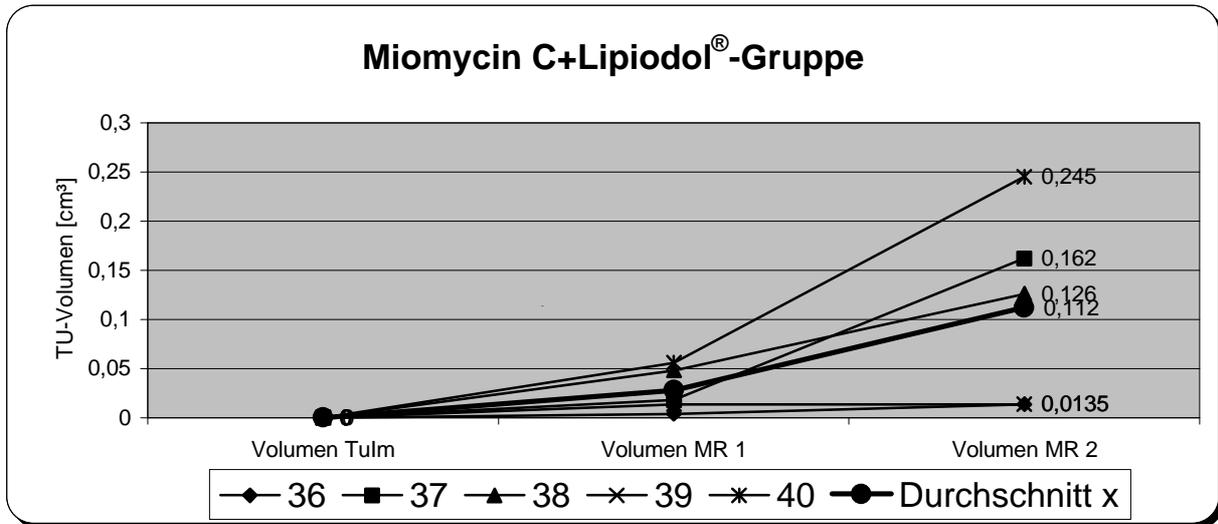


Abbildung 12: Die Tumorumina der Gruppe G: Mitomycin C + Lipiodol®-Gruppe zum Zeitpunkt der Tumorimplantation (Volumen TuIm), des Kernspins am Tag vor Therapie (Volumen MR1) und des Kernspins 14 Tage nach Therapie (Volumen MR2) sind nach Tiernummern getrennt dargestellt. Durchschnitt x: Mittelwert der Tumorumina.

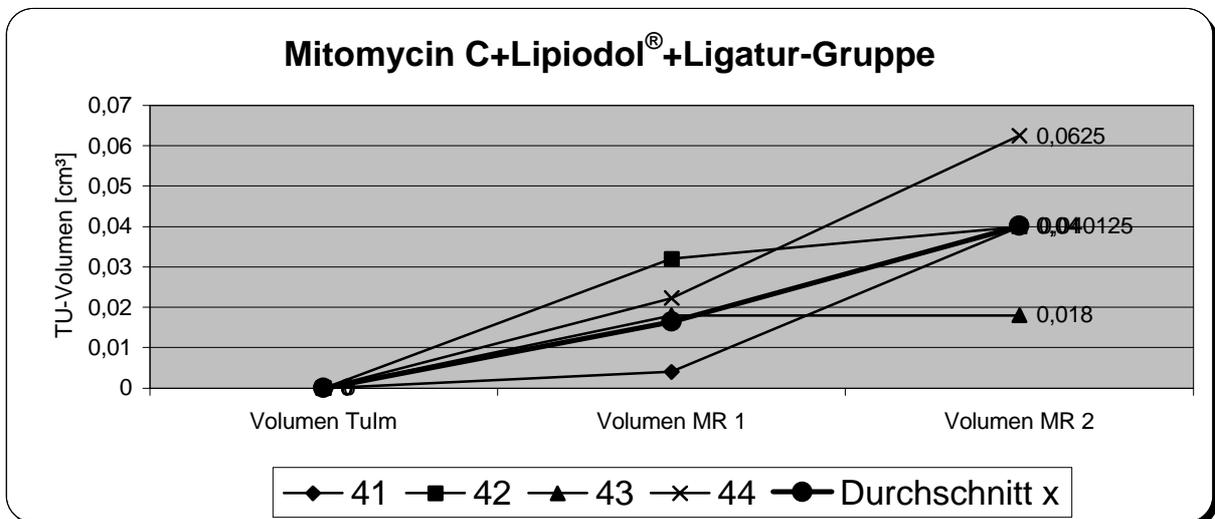


Abbildung 13: Die Tumorumina der Gruppe H: Mitomycin C + Lipiodol® + Ligatur-Gruppe zum Zeitpunkt der Tumorimplantation (Volumen TuIm), des Kernspins am Tag vor Therapie (Volumen MR1) und des Kernspins 14 Tage nach Therapie (Volumen MR2) sind nach Tiernummern getrennt dargestellt. Durchschnitt x: Mittelwert der Tumorumina.

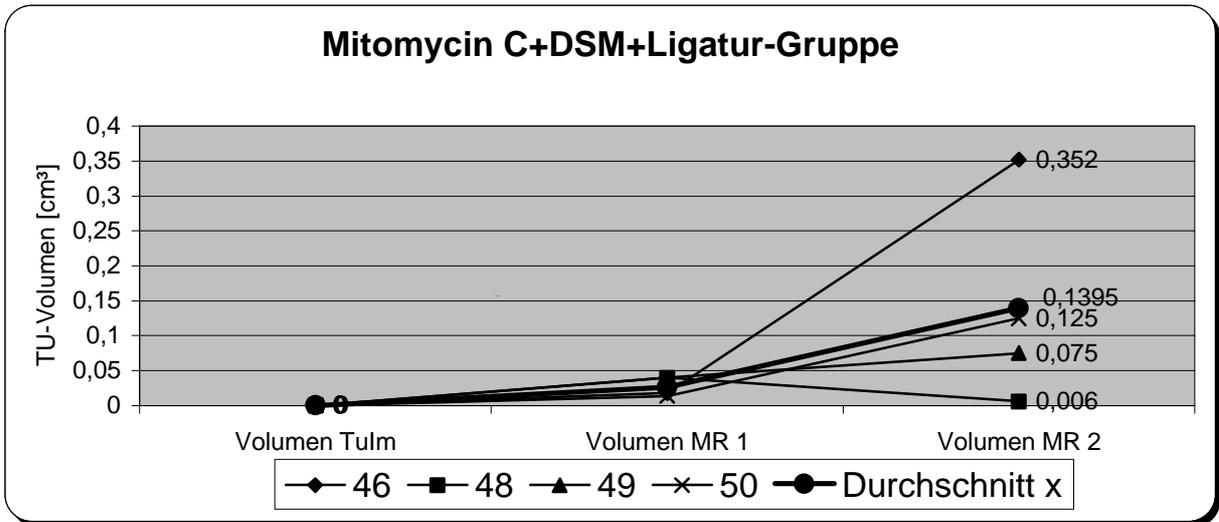


Abbildung 14: Die Tumervolumina der Gruppe I: Mitomycin C + DSM + Ligatur-Gruppe zum Zeitpunkt der Tumorimplantation (Volumen TuIm), des Kernspins am Tag vor Therapie (Volumen MR1) und des Kernspins 14 Tage nach Therapie (Volumen MR2) sind nach Tiernummern getrennt dargestellt. Durchschnitt x: Mittelwert der Tumervolumina.

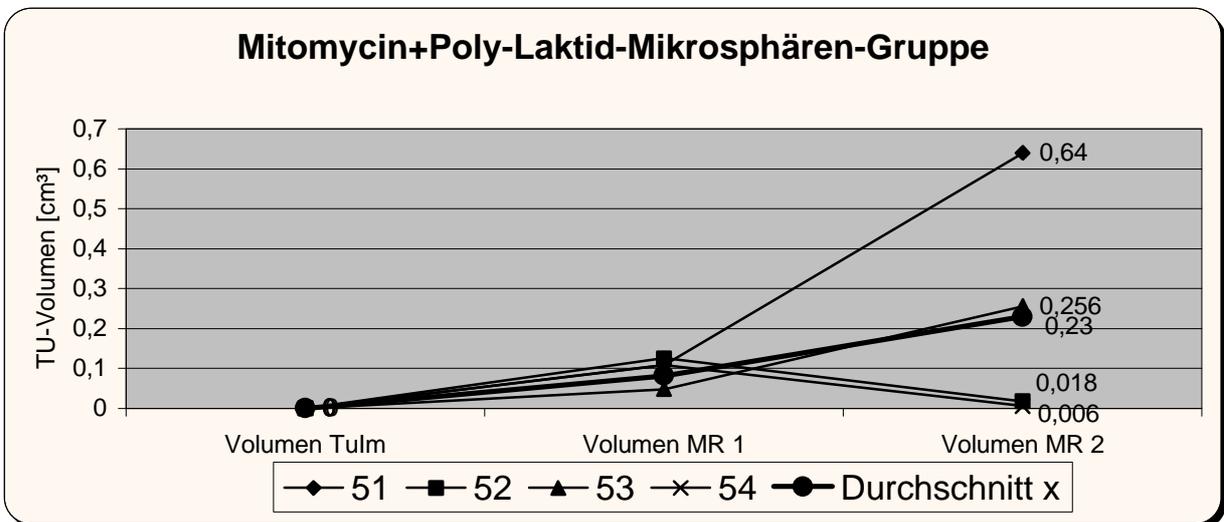


Abbildung 15: Die Tumervolumina der Gruppe J: Mitomycin C + Poly-Laktid-Co-Glycolid-Mikrosphären zum Zeitpunkt der Tumorimplantation (Volumen TuIm), des Kernspins am Tag vor Therapie (Volumen MR1) und des Kernspins 14 Tage nach Therapie (Volumen MR2) sind nach Tiernummern getrennt dargestellt. Durchschnitt x: Mittelwert der Tumervolumina.

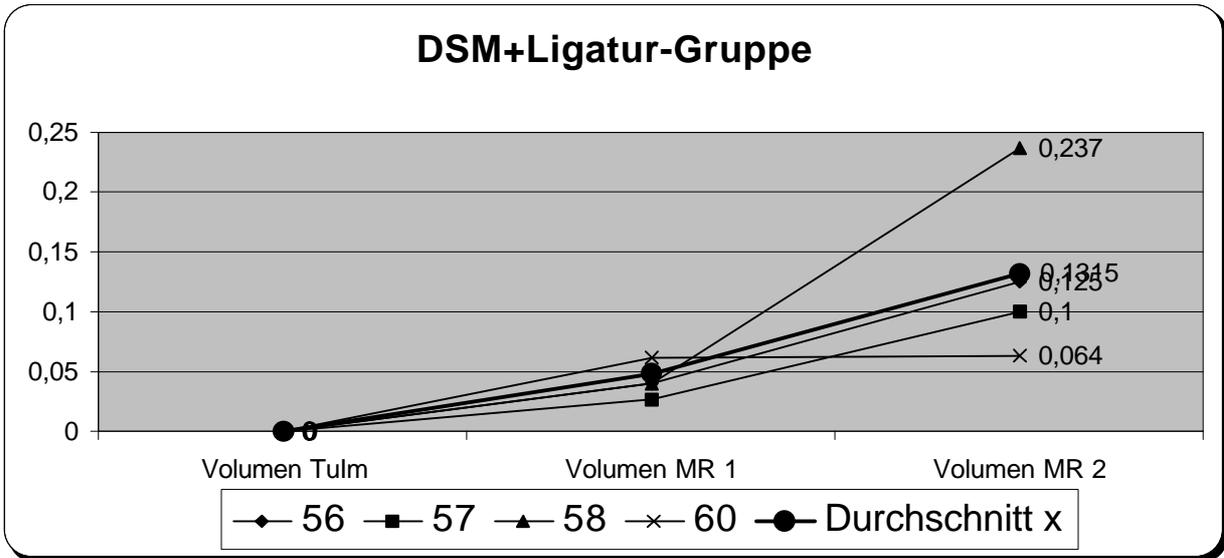


Abbildung 16: Die Tumolvolumina der Gruppe L: DSM + Ligatur-Gruppe zum Zeitpunkt der Tumorimplantation (Volumen TuIm), des Kernspins am Tag vor Therapie (Volumen MR1) und des Kernspins 14 Tage nach Therapie (Volumen MR2) sind nach Tiernummern getrennt dargestellt. Durchschnitt x: Mittelwert der Tumolvolumina.

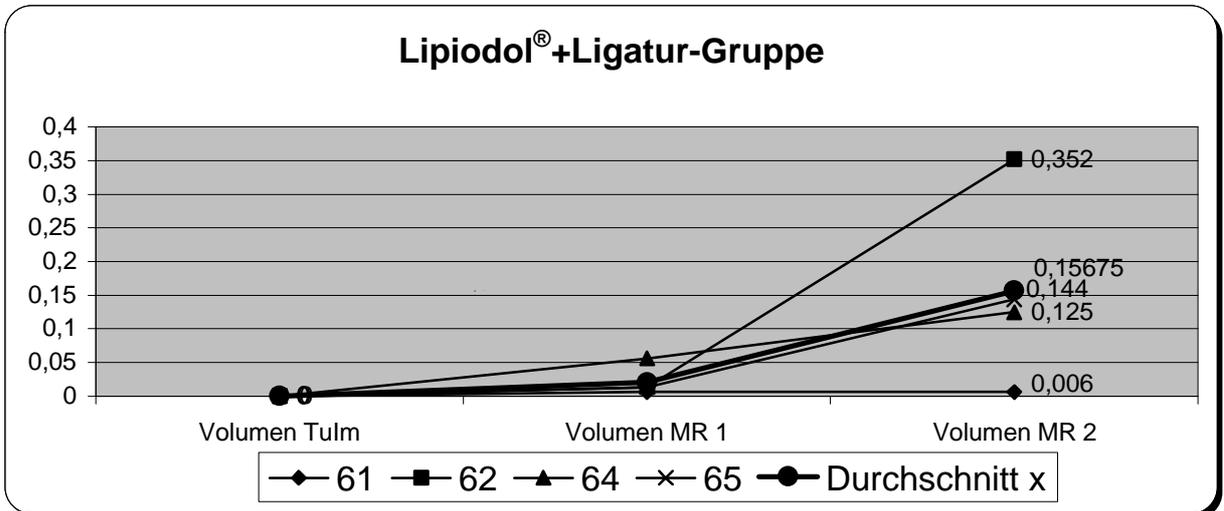
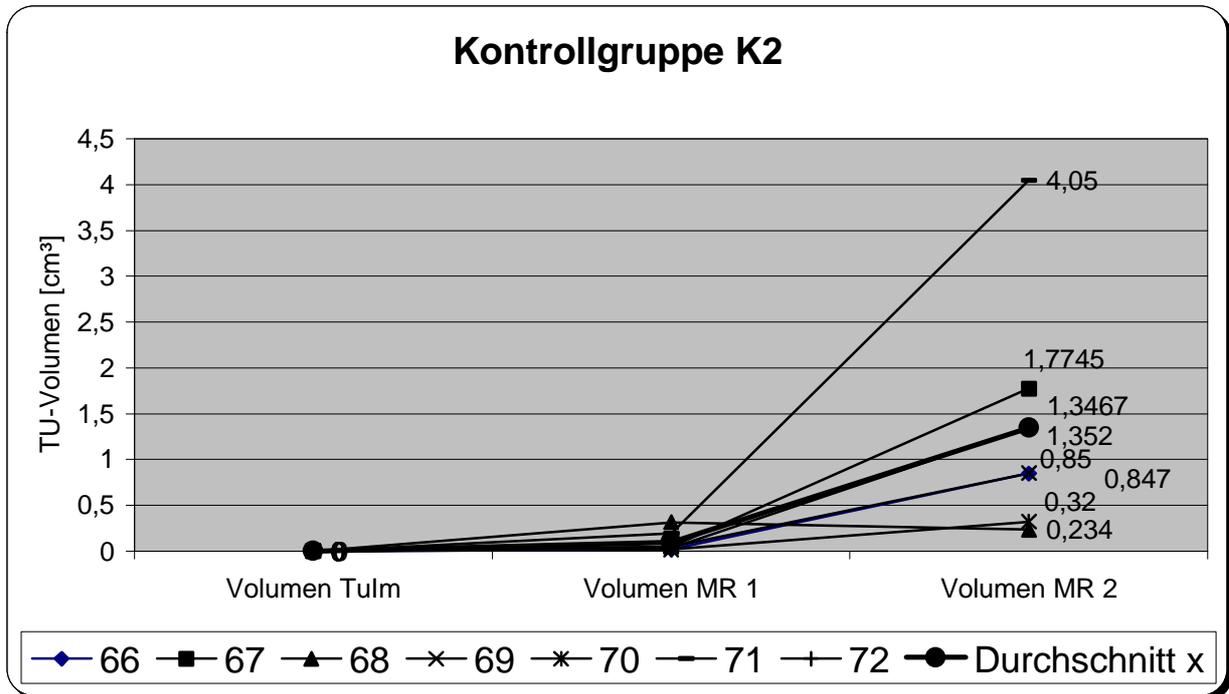


Abbildung 17: Die Tumolvolumina der Gruppe M: Lipiodol® + Ligatur-Gruppe zum Zeitpunkt der Tumorimplantation (Volumen TuIm), des Kernspins am Tag vor Therapie (Volumen MR1) und des Kernspins 14 Tage nach Therapie (Volumen MR2) sind nach Tiernummern getrennt dargestellt. Durchschnitt x: Mittelwert der Tumolvolumina.



**Abbildung 18:** Die Tumolvolumina der Gruppe K2: Kontrollgruppe K2 zum Zeitpunkt der Tumorimplantation (Volumen TuIm), des Kernspins am Tag vor Therapie (Volumen MR1) und des Kernspins 14 Tage nach Therapie (Volumen MR2) sind nach Tiernummern getrennt dargestellt. Durchschnitt x: Mittelwert der Tumolvolumina.

Aus der vor Beginn der Arbeit durchgeführten Fallzahlbestimmung ergab sich, dass mindestens vier Tiere pro Gruppe auswertbar sein müssen, damit die Ergebnisse verwertbar sind. Dies ist in allen zehn Therapiegruppen und der Kontrollgruppe K2 der Fall.

Zu Beginn der statistischen Auswertung wurde eine Kovarianzanalyse mit dem Faktor Embolisationsart (zehnmal Verum, einmal Kontrolle = Placebo) und dem Blockfaktor „Muttertumor“, bzw. Untergruppe und der Kovariablen „Tumolvolumen vor Embolisation (MR1)“ durchgeführt. Eine Kontrolle auf Interaktion zwischen Untergruppe und Embolisationsart ergab kein signifikantes Ergebnis. Deshalb wurde die endgültige Analyse ohne Interaktionsterm durchgeführt.

Das Modell ist mit  $F = 2.4$  bei 20 Freiheitsgraden statistisch signifikant mit einem  $p$  von  $p = 0,0166$  (vorgegebenes Niveau 5 %).

Für die Therapie und die Kovariablen ergeben sich folgende Werte (Ergebnisse der für alle einbezogenen Variablen adjustierten Auswertung):

Therapie:  $F = 2,73$ ; 10 Freiheitsgrade,  $p = 0,0107$

Untergruppenfaktor (=Muttertumor):  $F = 1,37$ ; 9 Freiheitsgrade,  $p = 0,2501$

Log (MR1=Tumorvolumen vor Embolisation):  $F = 3,82$ , 1 Freiheitsgrad,  $p = 0,0608$

Damit ist ein signifikanter Einfluss der Therapie auf das Tumorwachstum nachgewiesen. Außerdem kann davon ausgegangen werden, dass die Versuchsbedingungen keinen signifikanten Einfluss auf das Tumorwachstum haben.

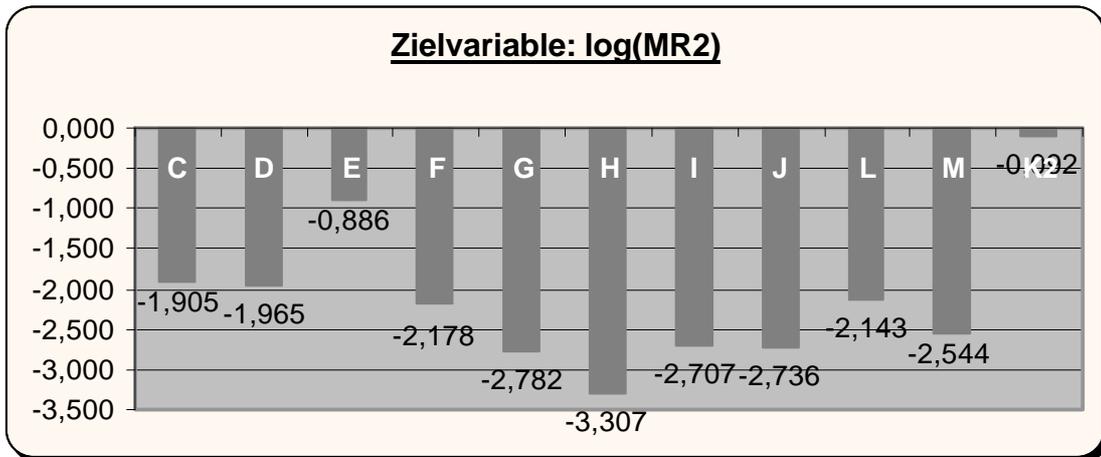
Im zweiten Schritt wurde nun mit einem einseitigen t-Test nach Dunnet (Dunnet CW, 1955) analysiert (Signifikanzniveau 5 %), bei welchen Therapiegruppen das Tumorwachstum signifikant geringer ist als in der Kontrollgruppe K2.

Diese Untersuchung ergab, dass das Tumorwachstum in sechs Gruppen, nämlich den Gruppen F: Mitomycin C + Ligatur-Gruppe, G: Mitomycin C + Lipiodol<sup>®</sup>-Gruppe, H: Mitomycin C + Lipiodol<sup>®</sup> + Ligatur-Gruppe, I: Mitomycin C + DSM + Ligatur-Gruppe, J: Mitomycin C + Poly-Lactid-Co-Glycolid-Mikrosphären-Gruppe und M: Lipiodol<sup>®</sup> + Ligatur-Gruppe signifikant geringer ist als in der Kontrollgruppe K2. Die Therapien C: Mitomycin C-Gruppe, D: DSM-Gruppe, E: Mitomycin C + DSM-Gruppe und L: DSM + Ligatur-Gruppe hatten hingegen im Vergleich mit der Kontrollgruppe K2 keinen signifikanten Einfluss auf das Tumorwachstum.

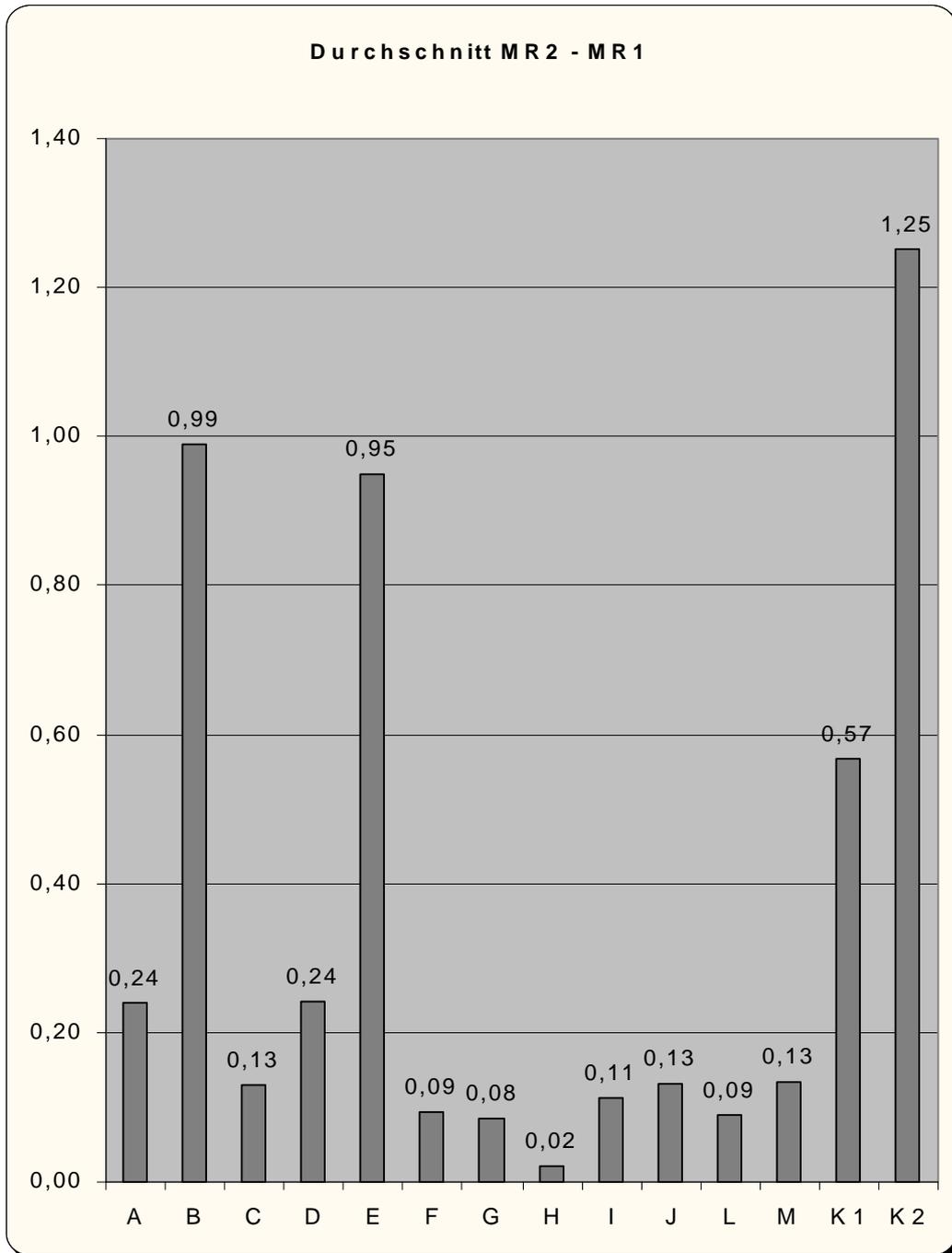
Eine Reihenfolge, welche Therapie am wirksamsten das Tumorwachstum hemmt, konnte nicht aufgestellt werden, da keine der sechs Therapien, die das Tumorwachstum signifikant hemmten, ein signifikant besseres Ergebnis lieferte als eine andere dieser sechs Therapien.

Die Berechnungen wurden mit dem Programm SAS 6.11 for Windows (Proc GLM) durchgeführt (SAS/STAT User's Guide, Version 6, 1998).

In der folgenden Abbildung sind die Durchschnittswerte der Zielvariablen (log(MR2)) der einzelnen Therapiegruppen und der Kontrollgruppe K2 dargestellt.

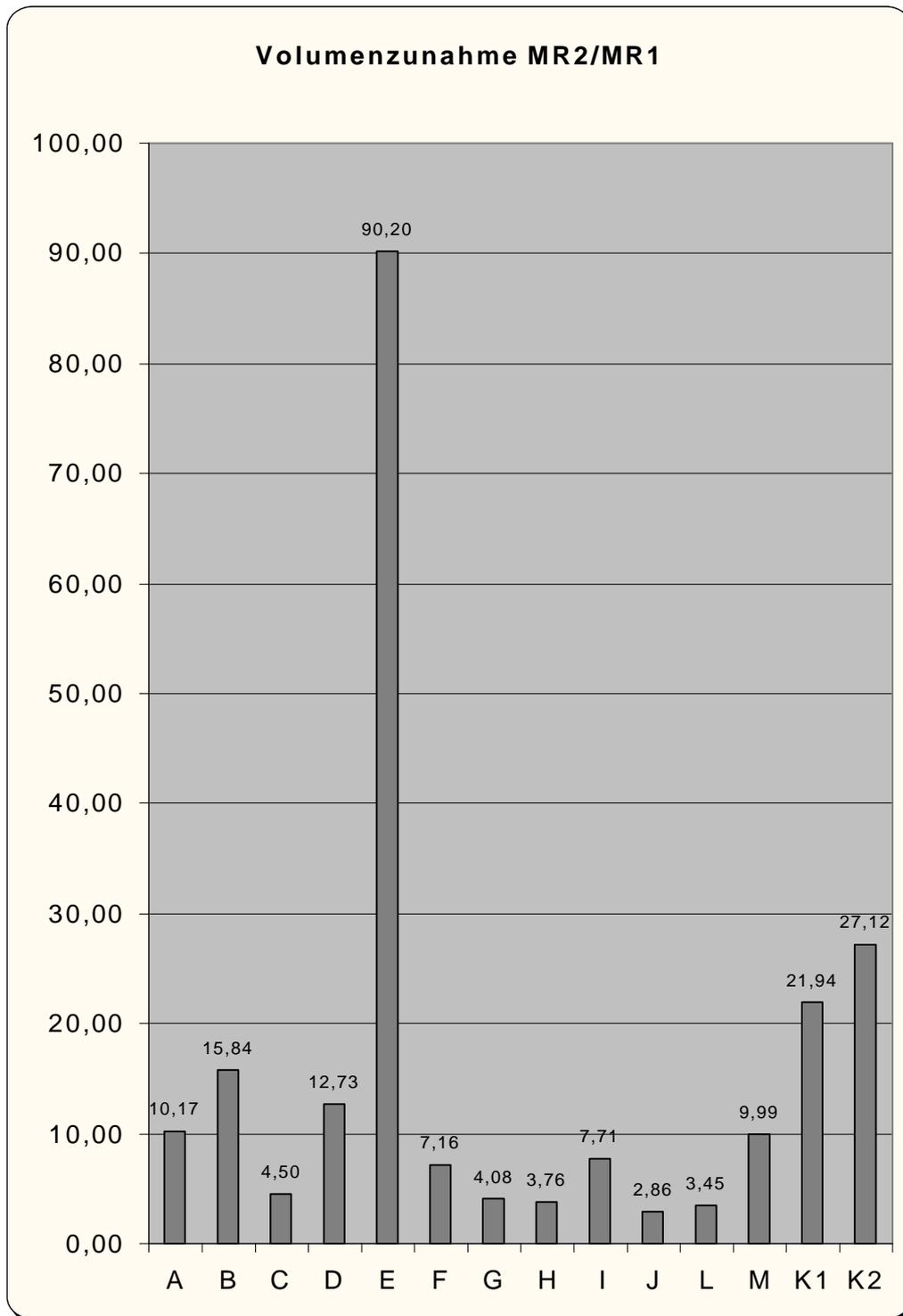


**Abbildung 19: Darstellung der Zielvariablen ( $\log(\text{MR2})$ ) des Teils B der Arbeit. Angegeben sind die Werte der jeweiligen Gruppen (C bis K2).**



**Abbildung 20:** Es sind die Durchschnittswerte der Differenzen der Tumorzumina 14 Tage nach und vor Therapie (MR2-MR1) für die Therapiegruppen A - M und die Kontrollgruppen K1 und K2 der Teile A und B der Arbeit dargestellt.

**A:** Ligatur-Gruppe, **B:** Lipiodol®-Gruppe, **C:** Mitomycin C-Gruppe, **D:** DSM-Gruppe, **E:** Mitomycin C + DSM-Gruppe, **F:** Mitomycin C + Ligatur-Gruppe, **G:** Mitomycin C + Lipiodol®-Gruppe, **H:** Mitomycin C + Lipiodol® + Ligatur-Gruppe, **I:** Mitomycin C + DSM + Ligatur-Gruppe, **J:** Mitomycin C + Poly-Lactid-Co-Glycolid-Mikrosphären-Gruppe, **L:** DSM + Ligatur-Gruppe, **M:** Lipiodol® + Ligatur-Gruppe, **K1:** Kontrollgruppe K1, **K2:** Kontrollgruppe K2

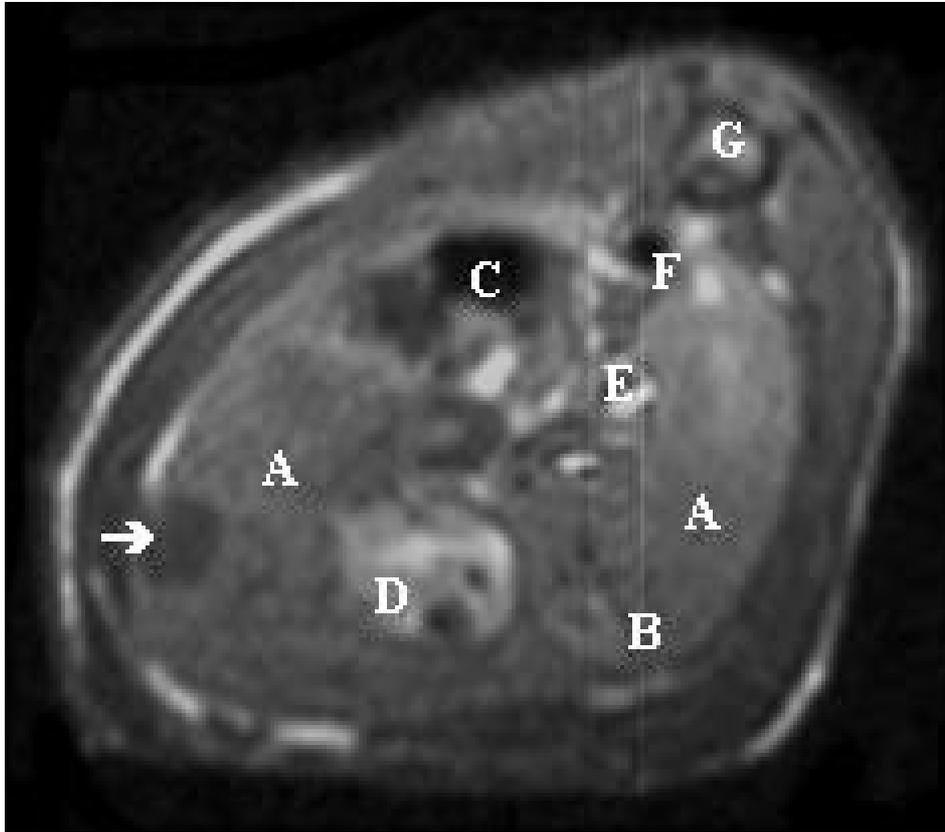


**Abbildung 21:** Es sind die Durchschnittswerte der relativen Tumorzunahme (MR2/MR1) für die Therapiegruppen A - M und die Kontrollgruppen K1 und K2 der Teile A und B der Arbeit dargestellt.

**A:** Ligatur-Gruppe, **B:** Lipiodol®-Gruppe, **C:** Mitomycin C-Gruppe, **D:** DSM-Gruppe, **E:** Mitomycin C + DSM-Gruppe, **F:** Mitomycin C + Ligatur-Gruppe, **G:** Mitomycin C + Lipiodol®-Gruppe, **H:** Mitomycin C + Lipiodol® + Ligatur-Gruppe, **I:** Mitomycin C + DSM + Ligatur-Gruppe, **J:** Mitomycin C + Poly-Lactid-Co-Glycolid-Mikrosphären-Gruppe, **L:** DSM + Ligatur-Gruppe, **M:** Lipiodol® + Ligatur-Gruppe, **K1:** Kontrollgruppe K1, **K2:** Kontrollgruppe K2

### 3.4. Exemplarische Auswahl der Kernspintomographiebilder

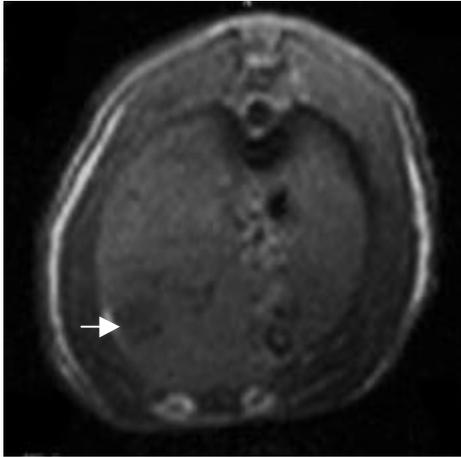
#### 3.4.1. Anatomie auf den Schnittbildern



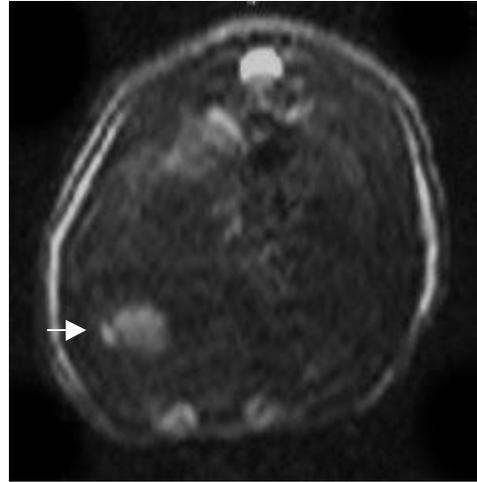
- A Leber
- B Niere (Oberpol)
- C Magenanschnitt (proximal)
- D Magenanschnitt (distal)
- E Darmschlingen
- F Aorta
- G Wirbelsäule
- Lobus sinister mit implantiertem Tumor

Abbildung 22: Beschreibung der auf einem MR-Schnittbild dargestellten Strukturen

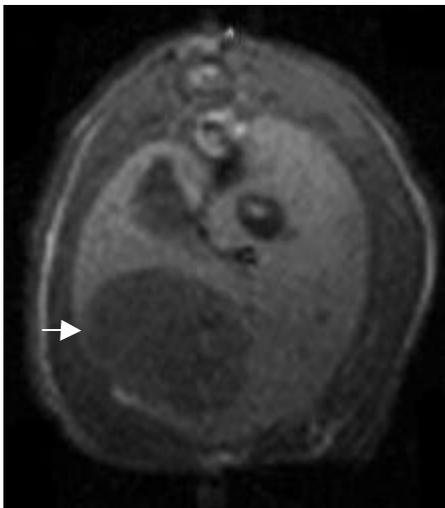
### 3.4.2 Beispiele für Tumoren vor und nach Therapie



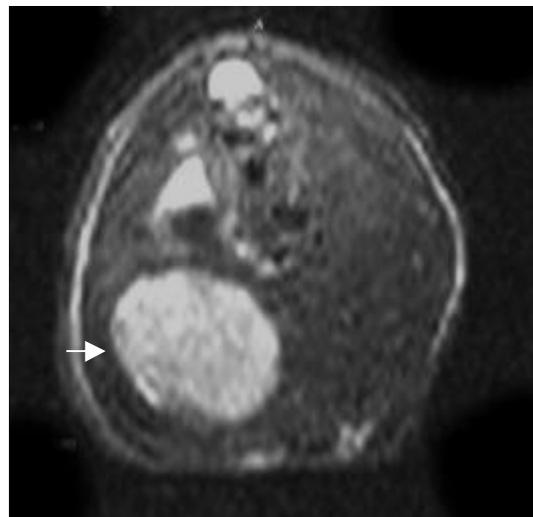
a)



b)

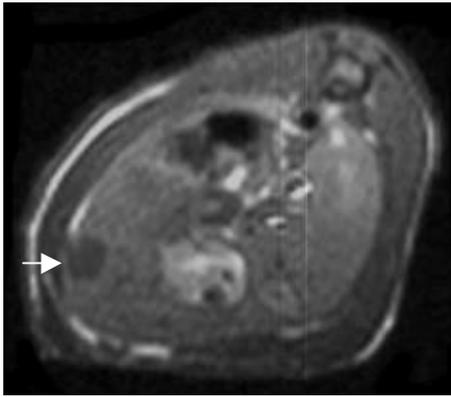


c)

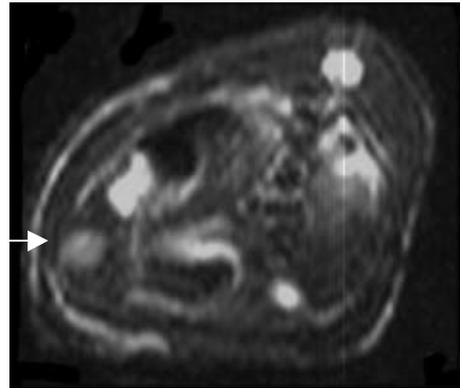


d)

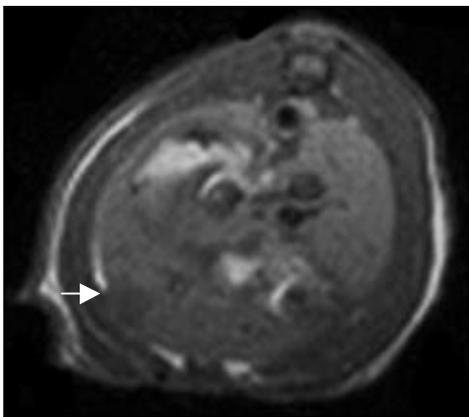
**Abbildung 23: Kernspinbilder von Tier Nr. 72 (Kontrollgruppe K2): a) T1 – gewichtete Aufnahme vor Therapie, b) T2 – gewichtete Aufnahme vor Therapie, c) T1 – gewichtete Aufnahme nach Therapie, d) T2 – gewichtete Aufnahme nach Therapie; → Tumor**



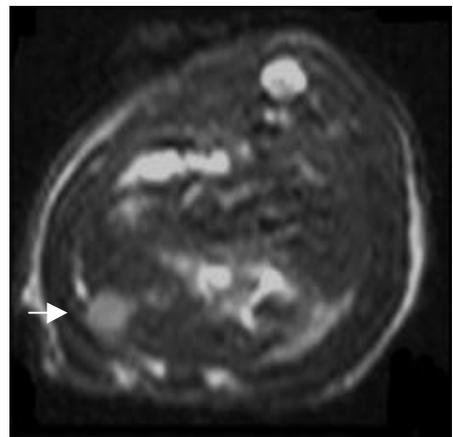
a)



b)

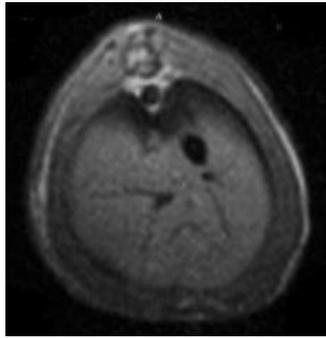


c)

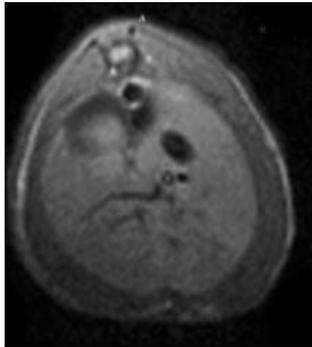


d)

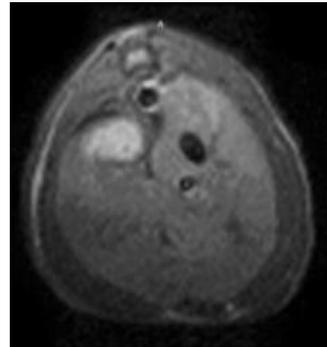
**Abbildung 24: Kernspinbilder Tier Nr. 49 (Gruppe I): Mitomycin C + DSM + Ligatur): a) T1 – gewichtete Aufnahme vor Therapie (MR1), b) T2 – gewichtete Aufnahme vor Therapie (MR1), c) T1- gewichtete Aufnahme nach Therapie (MR2) d) T2- gewichtete Aufnahme nach Therapie (MR2); → Tumor**



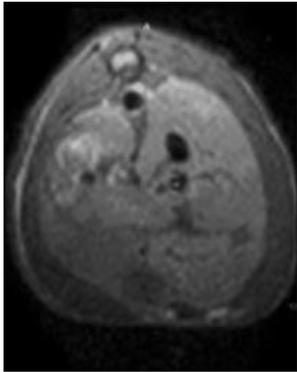
a)



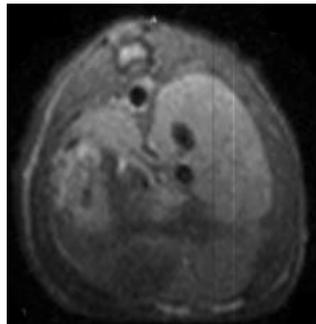
b)



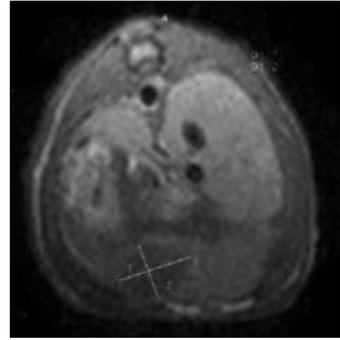
c)



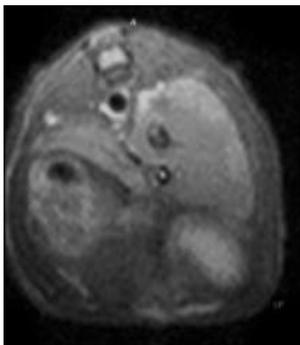
d)



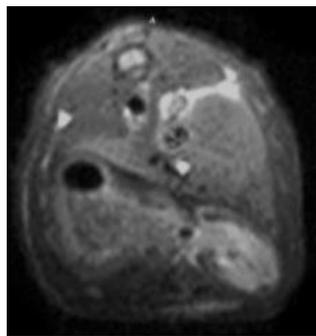
e)



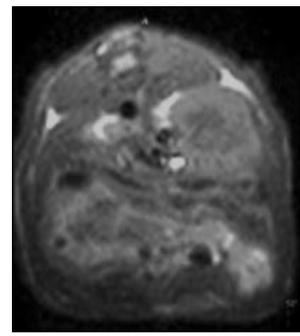
f)



g)



h)



i)

**Abbildung 25: Beispiel für eine Serie von Schnittbildern eines Tieres von kranial (a) bis kaudal (i); f): Die Tumordurchmesser sind eingezeichnet.**

## 4. Diskussion

Verschiedene Forschungsgruppen bemühen sich um die Verbesserung der vielfältigen Möglichkeiten in der Therapie des Hepatozellulären Karzinoms. Diese Fülle an möglichen Therapieformen zeigt, dass es bisher kein allgemein akzeptiertes Konzept einer stadiengerechten Behandlung gibt. Daher ist es wichtig, die einzelnen Behandlungsstrategien zu verbessern und Eingangskriterien für jede einzelne Therapie festzulegen.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Transarteriellen Chemoembolisation. Sie ist seit Jahren ein gängiges Verfahren in der Behandlung des HCC und wird ständig modifiziert und weiterentwickelt. Derzeit ist allerdings nicht bekannt, welche der zahlreichen zur Verfügung stehenden Kombinationen von Embolisaten und Chemotherapeutika die erfolgversprechendste ist. In einem Tierversuch mit geeignetem Tumormodell kann der Effekt verschiedener Therapiearten direkt beurteilt werden. In klinischen Studien nehmen neben der lokalen Effektivität, welche potentiell von der Methodik bestimmt wird, weitere Faktoren Einfluss auf die Zielvariable Überlebenszeit. Hierzu zählen beispielsweise der Schweregrad der Leberzirrhose, die Gefäßinvasion des Tumors und die Metastasierung. Daher war es sinnvoll, in einem Tiermodell Kombinationen zu vergleichen, um Erkenntnisse über ihre Wirksamkeit zu erhalten.

Es wurde die Wirkung von Mitomycin C, Lipiodol<sup>®</sup>, DSM-Partikeln und einer Ligatur als Monotherapie und in verschiedenen Kombinationen auf ein in ACI-Ratten chirurgisch implantiertes Morris Hepatom in zwei Teilen der Arbeit untersucht, indem das Tumolvolumen des implantierten Tumors vor und vierzehn Tage nach der entsprechenden Therapie mittels Kernspintomographie gemessen wurde. Im Teil A der Arbeit, in welchem auch mit einer relativ geringen Anzahl von Versuchstieren festgestellt wurde, dass das Versuchskonzept hinsichtlich der zu bewertenden Parameter aussagekräftig ist, wurden zwei Monotherapien mit einer Kontrollgruppe verglichen. Als Zielvariable wurde die Differenz des Logarithmus des Tumolvolumens 14 Tage nach Therapie und des Logarithmus vor Therapie gewählt. Im Teil B der Arbeit wurden weitere zwei Monotherapien und die Kombinationstherapien mit einer Kontrollgruppe

verglichen. Um die Anzahl der benötigten Versuchstiere auch in diesem Teil möglichst gering halten zu können, wurde ein spezielles Schema im Versuchsablauf mit Hilfe des Instituts für medizinische Informationsverarbeitung der Universität Tübingen erstellt. Aus diesem Grunde wurde als Zielvariable der Logarithmus des Tumorumfanges 14 Tage nach Therapie gewählt.

Es zeigte sich, dass eine Monotherapie der jeweiligen verwendeten Substanz keine Wirkung erbringt. Weder Mitomycin C, noch DSM, Lipiodol® oder eine Ligatur konnte das Tumorstadium im Vergleich zu einer Kontrollgruppe signifikant hemmen.

Bei der Therapie mit zwei Komponenten, fiel auf, dass die Gruppen mit Beteiligung von DSM auch hier keine Wirkung zeigten: Die Kombinationen Mitomycin C + DSM und DSM + Ligatur konnten das Tumorstadium im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht hemmen. Wurden allerdings Therapien mit zwei Komponenten durchgeführt, die kein DSM enthielten, so wurden die Tumorzellen so stark geschädigt, dass die Tumorstadiumgröße nach Therapie signifikant geringer war, als in der Kontrollgruppe K2: Mitomycin C + Ligatur; Lipiodol® + Ligatur und Mitomycin C + Lipiodol®.

Eine Therapie mit drei Komponenten führte in allen verwendeten Kombinationen zu einer signifikanten Hemmung des Tumorstadiums: Mitomycin C + DSM + Ligatur und Mitomycin C + Lipiodol® + Ligatur.

#### **4.1. Tumorimplantation und Tumormodell**

Um aus einem Tumormodell im Tierversuch Rückschlüsse auf das menschliche Hepatozelluläre Karzinom ziehen zu können, ist es wichtig, dass der verwendete Tumor ähnliche Eigenschaften besitzt wie das humane Hepatom.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Morris-Hepatom als Modell verwendet, da dieses zahlreiche Ähnlichkeiten mit dem humanen HCC aufweist.

Das Morris Hepatom 3924A ist ein schnell wachsender, wenig differenzierter Lebertumor. Sein Wachstum ist infiltrativ und macht vor Organengrenzen keinen Halt. Lungenmetastasen treten ab etwa dem 28. Wachstumstag in etwa 20 % der Fälle auf (Yang R et al., 1992). Da die Tiere nach 28 Tagen der zweiten Kernspintomographie unterzogen und danach getötet wurden, konnte davon ausgegangen werden, dass Fernmetastasen nur in seltenen Fällen auftraten.

Das HCC ist ein hauptsächlich arteriell versorgter Tumor. Daher ist es wichtig, dass auch der implantierte Modelltumor arteriell versorgt wird. In eigenen Vorarbeiten erwies sich der chirurgisch unter die Leberkapsel gesetzte Tumor in der Angiographie vornehmlich arteriell versorgt (Trübenbach et al., 2000). Er erfüllt folglich dieses wichtige Kriterium.

Zur Tumorimplantation wurde die von R. Yang et al. (1992) entwickelte Technik in leicht modifizierter Form verwendet. Sie hat sich auch in dieser Arbeit bewährt: Nur zwei Tiere (2,6 %) starben bei der Tumorimplantation. Dies lag in einem Fall an einer Narkosemittelunverträglichkeit, die auch Yang et al. (1992) in ihrer Arbeit beschreiben, im zweiten Fall an inneren Verletzungen, die bei der Intraperitonealnarkose durch die Nadel verursacht wurden.

Der Prozentsatz der angewachsenen Tumoren konnte im Vergleich zu den Vorarbeiten (über 90 %) auf 96,1 % angehoben werden. Allerdings erzielten R. Yang et al. (1992) einen Prozentsatz von 100 %. Eine Erklärung für das Nichtanwachsen von Tumoren kann eine makroskopisch nicht sichtbare Nekrose in kleinen Bereichen des Muttertumors sein.

## **4.2. Katheterisierung**

Es starben insgesamt 10 Tiere während oder nach der Katheterisierung und Therapiedurchführung.

Die besondere Schwierigkeit dieser Methode besteht darin, den Katheter in das meist kleinere Lumen der Arteria gastroduodenalis einzuführen. Hierbei ist es wichtig, die Arterie von allem Bindegewebe zu befreien, um zu vermeiden, dass der Katheter zwischen Media und Bindegewebe der Arterie eingeführt wird.

Bei dieser Entfernung wurden eventuell im umliegenden Gewebe Läsionen gesetzt, die möglicherweise zu einem späteren Verbluten der Tiere führten. Eine zweite Erklärungsvariante für den Tod der Tiere ist auch hier eine Medikamenten-unverträglichkeit.

Die verwendeten Medikamente ließen sich – mit unterschiedlicher Injektionsgeschwindigkeit – alle durch den Katheter applizieren. Bei der gewählten Methode bestand ein Vorteil darin, dass der Fluss der zu applizierenden Substanzen beobachtet werden und auf ein Verstopfen des Gefäßes oder des Katheters sofort reagiert werden konnte.

Ein Nachteil der Methode liegt in der Unmöglichkeit einer wiederholten Therapie im Abstand von Tagen oder Wochen, da man den Katheter nach Therapiedurchführung entfernen muss und zudem die Arteria gastroduodenalis distal und proximal ligiert wird, was das erneute Legen eines Katheters verhindert. Dies macht einen Vergleich zur Therapie des Hepatozellulären Karzinoms schwierig, da hierbei meist mehrere Zyklen (im Abstand von acht bis zwölf Wochen) bis zum Erreichen einer kompletten Tumornekrose erforderlich sind (Huppert PE, 1994a; Allgeier HP et al. 1996).

#### **4.3. Kernspintomographie zur Darstellung von Tumoren bei Ratten**

Zur Darstellung der Tumoren und zur Bestimmung der Tumorgößen wurde am Tag vor der Durchführung der Transarteriellen Chemoembolisation und 14 Tage nach dieser Therapie eine Kernspinuntersuchung der Leber der behandelten Tiere durchgeführt.

Im Vergleich zu anderen Arbeiten, in denen das Tumolvolumen nach Laparotomie bestimmt wurde (z.B. Bartkowski R et al. 1997), entfällt durch die in dieser Arbeit angewendete Methode der Bestimmung des Tumorwachstums mittels Bildgebung eine weitere Laparotomie, so dass die Tiere geschont werden konnten. Zudem hat dieses Verfahren den Vorteil, dass der Tumor nicht nur an der Leberoberfläche ausgemessen wurde, sondern auch die tiefer in der Leber gelegenen Anteile beurteilt werden konnten. Dies ermöglicht die Vermessung des Tumors in der Ebene seiner größten Ausdehnung, ohne dass am Tumor oder am Lebergewebe manipuliert werden musste.

Im Vergleich zu allen anderen bildgebenden Verfahren erwies sich die Kernspintomographie in Vorversuchen als das geeignetste, um die Größe der Lebertumoren zu bestimmen. Sie ist relativ einfach durchzuführen und bietet einen

guten Kontrast zwischen Tumor- und Lebergewebe, so dass alle Hepatome in der T1- und T2-gewichteten Aufnahme einfach abgrenzbar waren (Trübenbach J et al., 2000).

Mit der Sonographie konnten Tumoren in der Rattenleber nur selten dargestellt werden, vor allem die Abgrenzung kleiner Morris Hepatome erwies sich als besonders schwierig.

Angiographien der Morris Hepatome konnten den Tumor gut von der Leber abgrenzen und zusätzlich die vornehmlich arterielle Blutversorgung nachweisen. Dieses Verfahren ist aber im Vergleich zur Kernspintomographie erheblich aufwendiger. Außerdem könnte der im Gefäß belassene, zur Applikation des Kontrastmittels erforderliche Katheter nach der Angiographie aus dem Gefäß herausgleiten und das Tier verbluten.

Eine weitere Alternative zur Tumordarstellung bildet die Computertomographie, doch auch dieses Verfahren war der Kernspintomographie hinsichtlich der Abgrenzbarkeit des Tumors zum umliegenden Lebergewebe unterlegen.

#### **4.4. Behandlung des Hepatozellulären Karzinoms**

Zur Behandlung des Hepatozellulären Karzinoms stehen chirurgische, systemische und regionale Verfahren zur Verfügung, zusätzlich bestehen gentherapeutische Ansätze.

Die chirurgische Leberteileresektion ist als potentiell kurative Therapie anzusehen. In einer Multizenter-Analyse mit 2236 Patienten betrug das Drei-Jahres-Überleben 46 % (Tobe T und Arri S, 1992), neuere Studien sprechen von einem Drei-Jahres-Überleben von 75 bis 79 %, einem Fünf-Jahres-Überleben von 50 bis 53 % und einem rezidivfreien Fünf-Jahres-Überleben von 26 bis 30 %. (Lui WY et al., 1995; Nagashima I et al., 1996; Bruix J et al., 1992; Kawasaki S et al., 1995; Tabaneka K et al., 1996). Die Unterschiede in den Angaben der Überlebensraten beruhen auf der variierenden Größe des Tumors zu Therapiebeginn: Die Fünf-Jahres-Überlebensrate liegt bei Tumoren unter zwei Zentimetern bei 70 %, für Tumoren zwischen zwei und fünf Zentimetern bei 55 %, bei 16 % für Tumoren zwischen fünf und zehn Zentimetern und bei 6 % für Tumoren mit einer Größe über zehn Zentimetern (Zieren J et al., 1994).

Diese erfolgreichen Werte der Leberteilresektion werden allerdings dadurch relativiert, dass die perioperative Mortalität bei 5 % für Patienten ohne und bei 15 – 20 % für Patienten mit Leberzirrhose liegt (Lui WY et al., 1995; Nagashima I et al., 1996; Bronowicki JP et al., 1996) und vor allem dadurch, dass nur zehn Prozent der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung einer Operation unterzogen werden können. Aufgrund einer zu großen Tumorausdehnung oder einer zu geringen funktionellen Leberreserve können 90 % der Patienten nicht operiert werden. (Kosuge T et al., 1993; Belghiti J et al., 1985; The liver cancer Study Group of Japan, 1990; Yamanaka N und Okamoto E, 1989). Letztlich kommen nur Patienten im Okuda-Stadium I für diese Behandlung in Frage (Reinwald H, 1997).

Die zweite chirurgische Option in der Behandlung des Hepatozellulären Karzinoms ist die orthotope Lebertransplantation. Auch sie kann potentiell kurativ sein, doch aufgrund der geringen Fünf-Jahres-Überlebensrate von 30 – 40 % und wegen des Mangels an Spenderlebern bleibt sie zur Behandlung des Leberzellkarzinoms umstritten (Iwatsuki S et al., 1991; Pichlmayr R et al., 1994). Die perioperative Mortalität ist mit 15 – 20 % ebenfalls hoch. Eine HBV-Infektion ist für diese Therapie prognostisch ungünstig, und gerade in Epidemiegebieten tritt der Tumor häufig auf (Chung SW et al., 1994). Im Vergleich mit der Leberteilresektion fanden Iwatsuki et al. (1991) bei Betrachtung aller Patienten keine signifikanten Unterschiede in der Fünf-Jahres-Überlebensrate, wohl aber, wenn nur Patienten mit gleichzeitiger Leberzirrhose berücksichtigt wurden. Hier war die Überlebensrate nach Lebertransplantation signifikant höher. Ein Nachteil der Lebertransplantation aufgrund eines Leberzellkarzinoms scheint die daraus folgende Beeinträchtigung der Lebensqualität zu sein. So geben Bronowicki et al. (1996) an, dass die Patienten aufgrund von Tumorrezidiven oder Komplikationen der Immunsuppression ein Drittel ihres weiteren Lebens im Krankenhaus verbringen müssen.

Die perkutane Ethanolinjektion gehört zu den lokalen Therapieverfahren. Es handelt sich hierbei um eine ultraschallgesteuerte Behandlungsmethode des Leberzellkarzinoms, nach deren Durchführung der Alkohol im Tumorgewebe eine

Koagulationsnekrose auslöst, indem die kleinen tumorversorgenden Gefäße thrombosieren und es daher zu einer Ischämie kommt (Sugiura N et al., 1983). Die Wirksamkeit dieser komplikationsarmen und kostengünstigen Therapie wurde mehrfach bestätigt. Die Drei-Jahres-Überlebensrate von Patienten im Child-Pugh-Stadium A liegt zwischen 72 und 76 % (Livraghi T et al., 1992; Livraghi T, 1993; Vilana R et al., 1992). Für Patienten in höheren Child-Pugh-Stadien ist der Therapieerfolg allerdings deutlich geringer. So beträgt z.B. die Drei-Jahres-Überlebensrate für Patienten im Child-Pugh-Stadium B mit Leberzirrhose nur noch 40 % (Livraghi T, 1995), Patienten im Stadium C profitieren gar nicht von einer solchen Behandlung. (Allgaier HP, 1996).

Eine weitere lokale Therapiemöglichkeit des Leberzellkarzinoms besteht in der Transarteriellen Chemoembolisation. Hier wird nach transfemoraler Sondierung der Arteria hepatica propria in die entsprechenden Tumorgefäße eine ölige Emulsion, bestehend aus Lipiodol® und einem Chemotherapeutikum (z.B. Mitomycin C), injiziert. Der Tumor wird zum einen durch das sich im Tumorgewebe anreichernde Lipiodol® und zum anderen durch das dadurch auch in hoher Konzentration vorliegende Chemotherapeutikum geschädigt. Meist sind mehrere Zyklen im Abstand von acht bis zwölf Wochen nötig, um eine komplette Tumornekrose zu erreichen (Caselmann et al., 1999). Das Ausmaß der durch die Transarterielle Chemoembolisation ausgelösten Tumornekrose ist von den tumorspezifischen Merkmalen Vaskularisationsgrad, Invasivität und Enkapsulation sowie wahrscheinlich auch von der Art der angewandten Therapie (mehrmalige TACE, differente Zytostatika, Carriersubstanzen und Embolisate) abhängig. In einer Studie mit 72 Patienten beschreiben Farinati et al. (1996) eine Ein-, Zwei- und Drei-Jahres-Überlebensrate von 83, 61 und 56 %. Da aber auch diese Therapie wie die perkutane Ethanolinjektion für Patienten mit Tumoren im Child-Pugh-Stadium C keine Erfolge aufweisen konnte (Ein-Jahres-Überlebenszeit: 0 %), sehen die Zahlen für die Stadien A und B erheblich besser aus. So wurden für das Child-Pugh-Stadium A Ein-, Zwei- und Drei- Jahresüberlebenszeiten von 93, 77 und 70 % und für Patienten im Child-Pugh-Stadium B entsprechend 73, 27 und 27 % festgestellt.

Die Chemotherapie, ob als Mono- oder Polychemotherapie mit Zytostatika allein oder in Kombination mit Interferon, führt zu keiner signifikanten Lebensverlängerung. (Cheirsilpa A et al., 1989; Falkson G et al., 1987; Falkson G und Coetzer B, 1988; Lai CL et al., 1988; Thonprasert S, 1988), sondern birgt vor allem in Kombinationstherapien erhebliche toxische Nebenwirkungen. Und auch die Wirkung des Anti-Östrogens Tamoxifen konnte in einer größeren Studie nicht bestätigt werden (Castells A et al., 1995).

Mit der externen Bestrahlung erwirkten Aoki K. et al. (1994) nur ein geringes Ansprechen. Zudem trat in über der Hälfte der Fälle dieser Studie als Folge der Bestrahlung eine Leberinsuffizienz auf.

Die interne Strahlentherapie wird durch intraarterielle Injektion von <sup>131</sup>Jod-Lipiodol<sup>®</sup> vollzogen. Nach einer Therapie mit mehreren Applikationen wies eine behandelte Gruppe eine signifikant höhere Sechs-Monats-Überlebensrate als eine Kontrollgruppe auf (48 zu 0 %, Raoul JL et al., 1994). So zeigt diese Therapie zwar Wirkung, scheint aber anderen Therapieverfahren unterlegen zu sein.

Zu dem Therapieansatz einer Injektion von heißer Kochsalzlösung in das Tumorgewebe gibt es bisher erst wenige Untersuchungen. Bei kleinen solitären Hepatozellulären Karzinomen scheint der Effekt dem der perkutanen Ethanolinjektion ähnlich zu sein (Honda N et al., 1994).

Ein gentherapeutisches Konzept zur Behandlung des Leberzellkarzinoms ist zum Beispiel die lokale Stimulierung körpereigener Mechanismen durch Expression des Zytokins Interleukin 2 oder des Tumornekrosefaktors mit konsekutiver Zerstörung von HCC-Zellen oder die Einschleusung eines normalen Tumorsuppressorgens in HCC-Zellen, deren maligner Phänotyp durch eine Mutation dieses Gens bedingt ist (Blum HE et al., 1993).

Können HCC-Patienten nicht chirurgisch behandelt werden, scheinen also die lokalen Verfahren „perkutaner Ethanolinjektion“ und „Transarterielle Chemoembolisation“ am erfolgversprechendsten zu sein. Ihre Drei-Jahres-Überlebensraten im Child-Pugh-Stadium A sind mit 72 – 76 % und 70 % vergleichbar.

In klinischen Untersuchungen wurden verschiedene methodische Modifikationen der TACE erprobt (Zytostatika: Epirubicin, Doxorubicin, Cisplatin, Mitomycin C; Carriersubstanzen: Lipiodol<sup>®</sup>, Mikrosphären; Embolisate: Gelfoam, Kollagen). Meist stellten diese Untersuchungen Anwendungsbeobachtungen, das heißt einarmige Studien dar, die keinen exakten Vergleich der Ergebnisse verschiedener Methoden erlauben. Nur in wenigen Studien wurden die Resultate histologisch überprüft und Aussagen zur Effektivität gewonnen. Bisher vorliegende randomisierte Vergleichsstudien konnten keine Überlegenheit einzelner Methodiken der TACE belegen. So wurde die Art (Okamura J et al., 1992) und Notwendigkeit (Kawai et al., 1992) der Zytostatikaapplikation in Frage gestellt und auch die Notwendigkeit additiver Embolisationen (Nakao N et al., 1992; Raoul JL et al., 1992; Yamashita Y et al., 1991). Nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit muss man die Frage erneut stellen, ob DSM zur Behandlung des Hepatozellulären Karzinoms geeignet sind. Auch in einer klinischen Studie, in der eine lokale Chemotherapie mit Doxorubicin oder Mitomycin C alleine und in Kombination mit DSM verglichen wurden (Taguchi T et al. 1992), lebten die Patienten unter einer Kombinationstherapie zwar im Durchschnitt länger, allerdings waren die Unterschiede nicht signifikant.

Im Gegensatz dazu zeigten alle Kombinationstherapien der vorliegenden Arbeit, die als Komponente eine Ligatur der Arteria hepatica communis beinhalteten – abgesehen von der Ligatur als Monotherapie – eine signifikante Wirkung auf den Tumor. Zu erklären ist dies wohl dadurch, dass sich zum einen in den zwei Wochen bis zur Kernspinuntersuchung nach einer Therapie mit Ligatur keine oder nur wenige Kollateralen bilden konnten, zum anderen aber eine einmalige und dann sehr kurze Okklusion von Tumorgefäßen, wie es im Fall der DSM-Applikation der Fall ist, nicht ausreicht, um die Tumorzellen entscheidend zu schädigen.

Die Ergebnisse sprechen dafür, dass in weiteren klinischen Untersuchungen vor allem Kombinationstherapien Aussicht auf Erfolg im Kampf gegen das Hepatozelluläre Karzinom haben.

## 4.5. Optimierung des Verfahrens

In dieser Arbeit wurde eine einmalige Chemoembolisation durchgeführt. Eine wiederholte Substanzapplikation wäre der nächste Schritt, um den Therapieeffekt zu erhöhen und die Ergebnisse mit den humanen Therapien vergleichbarer zu machen, denn zur Therapie des menschlichen HCC werden in der Regel mehrere Zyklen der Chemoembolisation durchgeführt. Ferner könnten sich Versuche mit Kombinationen aus mehreren Chemotherapeutika anschließen.

Eine wiederholte Chemoembolisation mit der vorgestellten Methode ist jedoch nur denkbar, wenn es möglich ist, den Katheter, der zur Applikation der Substanzen in die Arteria gastroduodenalis gelegt wird, dort zu belassen und das zweite Ende des Katheters so zu verschließen, dass das erneute Aufsetzen einer Spritze möglich ist. Dies ist vorstellbar, wenn der Katheter mit einer entsprechenden Kappe versehen wird.

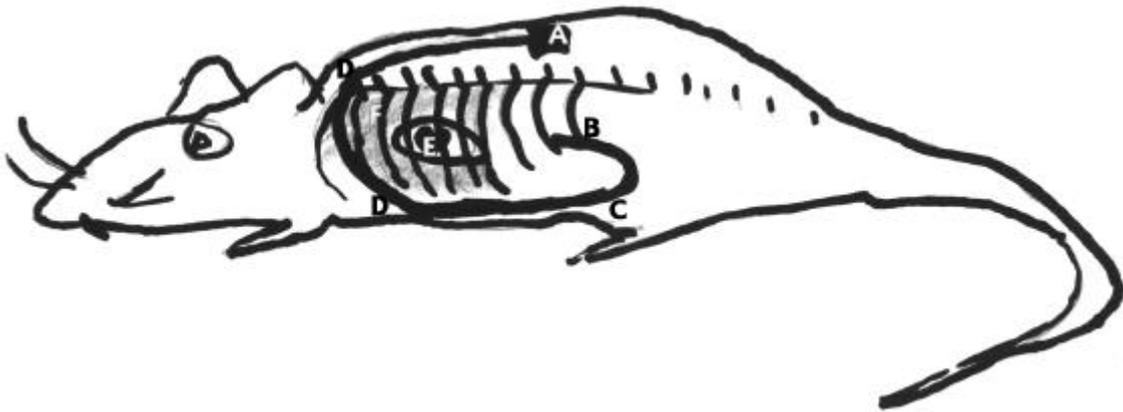
Da der Katheter im Situs des Tieres belassen werden müsste, wäre es zudem notwendig, diesen auf etwa einen Zentimeter zu kürzen. Eine wiederholte Therapie wäre dann nach medianer Laparotomie möglich: Nach dem Anschlingen der Arteria hepatica communis könnten über den Katheter Substanzen appliziert werden.

Der Nachteil dieses Verfahrens besteht in den wiederholten Operationen, die das Tier schwächen und die Gefahr seines Todes mit sich bringen.

Um wiederholte Laparotomien zu umgehen, ist eine zweite Methode denkbar: Auch hierbei wird der Katheter in der Arteria gastroduodenalis belassen und sein zweites Ende mit einer Kappe versehen, auf die eine Spritze gesetzt werden kann. Der Katheter wird nun aus dem Bauchraum heraus und subkutan bis zum Rücken des Tieres geführt. In seinem subkutanen Verlauf muss der Katheter an mehreren Stellen an der Haut beziehungsweise dem Unterhautfettgewebe des Tieres fixiert werden, um ein Verrutschen zu verhindern. Eine wiederholte Applikation von Substanzen ist dann nach einem kleinen Hautschnitt möglich. (Siehe Abbildung Nr. 26)

Um einen retrograden Fluss der Substanzen über die Arteria hepatica communis in den großen Kreislauf zu verhindern, ist hierbei in allen Therapiegruppen eine Ligatur der Arteria hepatica communis notwendig. Da in der vorliegenden Arbeit gezeigt wurde, dass die Ligatur einen hemmenden Effekt auf das Tumorwachstum hat, scheint dies ein in Kauf zu nehmender Nachteil zu sein.

Ein weiteres Risiko bildet die Thrombosierung der A. hepatica propria nach Ligatur der A. hepatica communis, da sie in diesem Fall nicht mehr durchblutet würde. Vorversuche müssten zeigen, ob sich dies durch rezidivierende Heparinspülungen vermeiden ließe.



**Abbildung 26: Verlauf eines s.c. gelegenen Katheters zur wiederholten transarteriellen Therapie**  
**A: Kappe am Ende des Katheters, B: In der A. gastroduodenalis gelegenes Katheterende,**  
**C: Durchtritt des Katheters durch das Peritoneum, D: Fixierung des Katheters am Fettgewebe/an**  
**der Haut, E: Herz, F: Lunge**

Sollte es sich wider alle Erwartungen herausstellen, dass es nicht möglich ist, einen Katheter in der A. gastroduodenalis zu belassen, existiert noch eine weitere Variante, bei der die Therapie allerdings nur höchstens zweimal durchgeführt werden kann: Im ersten Zyklus wird der Katheter in die Arteria gastroduodenalis gelegt und die Substanzen wie in dieser Arbeit beschrieben appliziert. Hierbei darf keine Ligatur der A. hepatica communis vollzogen werden. In einer zweiten Operation muss dem Versuchstier ein Katheter in die Arteria hepatica communis, nicht in die schon ligierte Arteria gastroduodenalis, gelegt werden. Nach dem Spritzen der Chemotherapeutika und der Embolisate muss in diesem Fall aber zwingend eine Ligatur erfolgen. Eine nochmalige Substanzapplikation ist nicht möglich, da sowohl die Arteria gastroduodenalis als auch die Arteria hepatica communis ligiert sind.

Eine Kombination von Chemotherapeutika erscheint sinnvoll, wenn sich die Wirkung stärker erhöht als die Nebenwirkungen. Da zur lokalen Chemotherapie mit Epirubicin, Doxorubicin, Cisplatin, Mitomycin C u.a. viele Substanzen zur Verfügung stehen, könnten auch präklinische Versuche in einem Tiermodell erwogen werden, um deren Wirkung in Kombinationen zu klären.

## 5. Zusammenfassung

Bei der Suche nach einer angemessenen Methode zur Behandlung des Hepatozellulären Karzinoms wurden bis heute keine zufriedenstellenden Ergebnisse erzielt. Insbesondere wenn eine kurative chirurgische Therapie in Form einer Leberteilresektion oder einer orthotopen Lebertransplantation aus Gründen der Tumorgröße, einer zu geringen Leberreserve oder eines verminderten Allgemeinzustandes des Patienten nicht möglich ist, müssen alternative, palliative Maßnahmen ergriffen werden.

Besonders vielversprechend ist hierbei der Ansatz der Transarteriellen Chemoembolisation (TACE). Bei diesem Verfahren wird durch Applikation gefäßokklusierender Substanzen in die tumorversorgenden Gefäße eine Ischämie im Tumor ausgelöst. Das simultan applizierte Chemotherapeutikum liegt regional verglichen mit einer systemischen Gabe in einer höheren Konzentration vor und kann den Tumor daher stärker schädigen. Die systemische Belastung ist vergleichsweise gering.

Allerdings wurde bis heute die Effektivität der möglichen Kombinationen der Transarteriellen Chemoembolisation - lokale Zytostatikagabe, kapilläre Embolisation mittels Lipiodol oder Mikrosphären als Carrier sowie arterielle Embolisation - hinsichtlich ihrer Wirkung auf ein Hepatozelluläres Karzinom unzureichend untersucht, um dadurch das Verfahren zu optimieren.

Zielsetzung der Arbeit war es, folgende Fragen zu klären:

- Welche Einzelkomponente ist die Wirksamste hinsichtlich der Hemmung des Wachstums eines Hepatozellulären Karzinoms.
- Ist eine Summation oder gar eine Potenzierung der Wirksamkeit der Einzelkomponenten Zytostase mittels Chemotherapeutikum, Hypoxie des Tumors durch periphere Okklusion der tumorversorgenden Gefäße sowie Akkumulation und Retardierte Abgabe des Zytostikums mittels eines Carriers und Hypoxie durch

zentralen Verschluss der zuführenden tumorversorgenden Gefäße mittels Ligatur gegeben.

- Welche Kombination der Verfahren verhindert das Tumorwachstum am stärksten.

Ein erster Schritt in diese Richtung sind präklinische Versuche an einem Tiermodell, um Erkenntnisse über die Wirksamkeit verschiedener Kombinationen aus Zytostatikum, Embolisaten und der Ligatur der Arteria hepatica communis auf das Wachstum eines Leberhepatoms zu erhalten.

Diese Arbeit untersuchte den Einfluss der Transarteriellen Chemoembolisation in unterschiedlichen Kombinationen dieser Komponenten auf ein in die Leber einer ACI-Ratte chirurgisch implantiertes Morris Hepatom 3924A. Hierzu wurde 14 Tage nach Tumorimplantation nach medianer Laparotomie eine Transarterielle Chemoembolisation über die Arteria hepatica propria via Arteria gastroduodenalis durchgeführt und anschließend gegebenenfalls eine Ligatur der Arteria hepatica communis vorgenommen. Die Effektivität des Verfahrens wurde anhand der Tumorgröße vor und 14 Tage nach der transarteriellen Therapie mittels Kernspintomographie festgestellt.

In einem ersten Teil der Arbeit (Teil A) wurden nicht nur zwei Monotherapien mit einer Kontrollgruppe verglichen, es wurde auch festgestellt, dass das Versuchskonzept hinsichtlich der zu bewertenden Parameter aussagekräftig ist. Im zweiten Teil der Arbeit (Teil B) wurden die übrigen Therapiegruppen mit einer Kontrollgruppe verglichen, um die Anzahl der benötigten Tiere so gering wie möglich zu halten nach einem speziellen, durch einen Statistiker festgelegten Versuchsablauf. Aus diesem Grunde unterscheiden sich die Zielvariablen der beiden Teile der Arbeit, im Teil A ist es die Differenz des Logarithmus des Tumolvolumens 14 Tage nach Therapie und des Logarithmus des Tumolvolumens vor Therapie, im Teil B der Logarithmus des Tumolvolumens 14 Tage nach Therapie.

Als Chemotherapeutikum wurde das zytostatisch wirkende Antibiotikum Mitomycin C verwendet, da seine Wirksamkeit im Rahmen der TACE mehrfach beschrieben und eine Wirkungsverstärkung unter Hypoxie bekannt ist .

Die Wirkung von DSM nach Okklusion tumorversorgender Gefäße scheint besonders bei Lebertumoren groß zu sein. Es eignete sich daher als Embolisat in dieser Arbeit.

Als weiteres Embolisat wurde Lipiodol® verwendet, da es nicht nur zum Verschluss von Gefäßen führt, sondern sich zudem auch im Tumorgewebe anreichert und eine eigene tumorschädigende Wirkung durch präkapilläre Anreicherung und eine Hypoxie infolge der Gefäßokklusion besitzt.

Ein vollständiger und zeitlich unbegrenzter Gefäßverschluss gelingt durch die Ligatur der Arteria hepatica communis, die somit ebenfalls zu einer Ischämie im Tumorgewebe führen kann.

Wurde im Rahmen der lokalen Behandlung nur eine Monotherapie der verschiedenen eingesetzten Substanzen – Lipiodol®, Mitomycin C, Poly-Lactid-Co-Glycolid-Mikrosphären und DSM – oder eine alleinige Ligatur vorgenommen, so konnte der Tumor nicht entscheidend geschädigt werden. Gleiches gilt für die Kombinationen Mitomycin C + DSM und DSM + Ligatur.

Dagegen hemmten folgende Kombinationen das Wachstums des Hepatoms im Vergleich zu einer Kontrollgruppe signifikant: Mitomycin C + Ligatur, Mitomycin C + Lipiodol®, Mitomycin C + Lipiodol® + Ligatur, Mitomycin C + DSM + Ligatur, Mitomycin C + Poly-Lactid-Co-Glycolid-Mikrosphären und Lipiodol® + Ligatur.

Es wurde damit nachgewiesen, dass weder eine alleinige lokale Chemotherapie noch ein alleiniger arterielle Verschluss der peripheren oder zentralen tumorversorgenden Gefäße den Tumor stark genug schädigen, um sein Wachstum zu verlangsamen. Um dies zu erreichen müssen die Ansätze als Transarterielle Chemoembolisation kombiniert werden.

Außerdem zeigte sich, dass nicht alle Kombinationen aus Embolisat und Chemotherapeutikum gleich effektiv sind. Auch unter den als wirksam nachgewiesenen Kombinationen scheint es hinsichtlich ihrer Wirkung große Unterschiede zu geben, was allerdings aufgrund der gering gehaltenen Fallzahlen nicht bewiesen werden konnte. Tendenziell ist aber die Kombination aus Mitomycin C und Poly-Lactid-Co-Glycolid-Mikrosphären die wirksamste.

In jedem Fall gilt es festzuhalten, dass in zukünftigen tierexperimentellen Arbeiten dieser Art nur noch die Effektivität von Kombinationstherapien untersucht und verglichen werden sollte.

Zur weiteren Optimierung der TACE erscheint es sinnvoll, folgende Schwerpunkte zu setzen:

- Die wirksamen Kombinationen müssen hinsichtlich ihrer Effektivität untereinander verglichen werden.
- Es muss festgestellt werden, wie viele Zyklen der TACE sinnvoll und in welcher Frequenz diese durchzuführen sind.
- Die Kombination verschiedener Chemotherapeutika in der Behandlung der TACE sollte hinsichtlich der Vergrößerung der Wirkung und der Nebenwirkungen untersucht werden.
- Da es das Ziel dieser Studien sein muss, ihre Ergebnisse in die Therapie des humanen HCC einfließen zu lassen, müssen sich klinische Studien anschließen, in denen die Überlegenheit einzelner Kombinationen anhand von Überlebenszeiten überprüft wird.

## 6. Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

|                 |  |
|-----------------|--|
| AFP             | <u>A</u> lpha <u>f</u> etoprotein  |
| CO <sub>2</sub> | Kohlendioxid   |
| CT              | <u>C</u> omputertomographie  |
| CTAP            | arterioportale <u>C</u> omputertomographie                                     |
| DMEM            | <u>D</u> oulbeccos <u>M</u> odified <u>E</u> agle <u>m</u> edium               |
| DSM             | <u>d</u> egradable <u>s</u> tarch <u>m</u> icrospheres                         |
| FCS             | fötales Kälberserum (fetal calf serum)   |
| HCC             | Hepatozelluläres Karzinom ( <u>h</u> epato <u>c</u> ellular <u>c</u> arcinoma) |
| MR1             | Kernspinaufnahme vor Therapie  |
| MR2             | Kernspinaufnahme 14 Tage nach Therapie   |
| MRT             | <u>M</u> agnetresonanztomographie  |
| MW              | <u>M</u> ittelwert   |
| R1 bis R6       | Reihe 1 bis Reihe 6  |
| Std. abw.       | <u>S</u> tandard <u>a</u> b <u>w</u> eichung                                   |
| TACE            | <u>T</u> ransarterielle <u>C</u> hemoembolisation                              |
| TNM             | <u>T</u> umor <u>N</u> odus <u>M</u> etastase                                  |
| TU              | <u>T</u> umor  |
| TuIm            | <u>T</u> umor <u>i</u> mplantation   |
| UG              | <u>U</u> ntergruppe  |
| UICC            | <u>U</u> nion <u>i</u> nternationale <u>c</u> ontre le <u>c</u> ancer          |

## 7. Verzeichnis der Tabellen

|   |    |
|---|----|
| Tabelle 1: Okuda-Stadien des HCC_____   | 8  |
| Tabelle 2: Child-Pugh-Klassifikation der Leberzirrhose_____                                       | 9  |
| Tabelle 3: TNM-Klassifikation des Hepatozellulären Karzinoms_____                                 | 9  |
| Tabelle 4: Stadieneinteilung des Hepatozellulären Karzinoms nach UICC_____                        | 10 |
| Tabelle 5: Überlebenszeit und Ein-Jahres-Überlebensrate in Abhängigkeit vom<br>Okuda-Stadium_____ | 10 |
| Tabelle 6: Gruppenzuordnung der Tiere im Teil A_____  | 24 |
| Tabelle 7: Gruppenzuordnung der Tiere im Teil B_____  | 24 |
| Tabelle 8: Versuchsablauf Teil A_____   | 28 |
| Tabelle 9: Versuchsablauf Teil B_____   | 29 |
| Tabelle 10: Tumorzvolumina und Berechnungen im Teil A_____  | 46 |
| Tabelle 11: Tumorzvolumina und Berechnungen im Teil B_____  | 50 |

## 8. Verzeichnis der Abbildungen

|   |    |
|---|----|
| Abbildung 1: Schema der Leberanatomie der Ratte   | 36 |
| Abbildung 2: Topographie der Peritonealhöhle der Ratte  | 38 |
| Abbildung 3: Intraoperativer Rattensitus  | 39 |
| Abbildung 4: Tumorumina der Gruppe A: Ligatur-Gruppe  | 47 |
| Abbildung 5: Tumorumina der Gruppe B: Lipiodol <sup>®</sup> -Gruppe   | 47 |
| Abbildung 6: Tumorumina der Gruppe K1: Kontrollgruppe K1  | 48 |
| Abbildung 7: Darstellung der Zielvariablen ( $\log(\text{MR}2) - \log(\text{MR}1)$ ) des Teils A                        | 48 |
| Abbildung 8: Tumorumina der Gruppe C: Mitomycin C-Gruppe  | 51 |
| Abbildung 9: Tumorumina der Gruppe D: DSM-Gruppe  | 51 |
| Abbildung 10: Tumorumina der Gruppe E: Mitomycin C + DSM-Gruppe   | 52 |
| Abbildung 11: Tumorumina der Gruppe F: Mitomycin C + DSM + Ligatur-Gruppe   | 52 |
| Abbildung 12: Tumorumina der Gruppe G: Mitomycin C + Lipiodol <sup>®</sup> -Gruppe                                      | 53 |
| Abbildung 13: Tumorumina der Gruppe H: Mitomycin C + Lipiodol <sup>®</sup> + Ligatur-Gruppe                             | 53 |
| Abbildung 14: Tumorumina der Gruppe I: Mitomycin C + DSM + Ligatur-Gruppe   | 54 |
| Abbildung 15: Tumorumina der Gruppe J: Mitomycin C + Poly-Laktid-Co-Glycolid-Mikrosphären-Gruppe                        | 54 |
| Abbildung 16: Tumorumina der Gruppe L: DSM + Ligatur-Gruppe   | 55 |
| Abbildung 17: Tumorumina der Gruppe M: Lipiodol <sup>®</sup> + Ligatur-Gruppe   | 55 |
| Abbildung 18: Tumorumina der Gruppe K2: Kontrollgruppe K2   | 56 |
| Abbildung 19: Darstellung der Zielvariablen ( $\log(\text{MR}2)$ ) des Teils B  | 58 |
| Abbildung 20: Durchschnittswerte der Differenzen der Tumorumina 14 Tage nach und vor TACE ( $\text{MR}2 - \text{MR}1$ ) | 59 |
| Abbildung 21: Durchschnittswerte der relativen Tumoruminenzunahme ( $\text{MR}2/\text{MR}1$ )                           | 60 |
| Abbildung 22: Schnittbildanatomie der Ratte in der MRT  | 61 |

|   |    |
|---|----|
| Abbildung 23: Kernspinbilder Tier Nr. 72 (Kontrollgruppe K2):   |    |
| a) T1 – gewichtete und b) T2 – gewichtete Aufnahme vor Therapie                                       |    |
| c) T1 – gewichtete und d) T2 – gewichtete Aufnahme nach Therapie _____                                | 62 |
| Abbildung 24: Kernspinbilder Tier Nr. 49  |    |
| a) T1 –gewichtete und b) T2 – gewichtete Aufnahme vor Therapie  |    |
| c) T1- gewichtete und d) T2 - gewichtete Aufnahme nach Therapie _____                                 | 63 |
| Abbildung 25: Beispiel für eine Serie von Schnittbildern  | 64 |
| Abbildung 26: Verlauf eines s.c. gelegenen Katheters zur wiederholten transarteriellen Therapie _____ | 75 |

## 9. Literatur

- Ackermann, N.B., Lien, W.M., Silvermann, N.A. (1972)  
*The blood supply of experimental liver metastases. III. The effects of acute ligation of the hepatic artery or portal vein.*  
Surgery, 71, 636 – 641
- Admus, R., Tesda, K., Georgi, M. (1997)  
*Perkutane Alkoholinstillationstherapie (PAI) und Chemoembolisation bei einem ausgedehnten hepatozellulären Karzinom (HCC).*  
Fortschr Röntgenstr, 166, 173 – 175
- Allgaier, H.P., Blum, U., Deibert, P., Spangenberg, H.C., Blum, H.E. (1996a)  
*Diagnostik des hepatozellulären Karzinoms.*  
Schweiz Med Wochenschr, 126, 1975 – 1983
- Allgaier, H.P., Deibert, P., Blum, U., Spangenberg, H.C., Moser, E., Blum, H.E. (1996b)  
*Therapie des hepatozellulären Karzinoms.*  
Schweiz Med Wochenschr; 126, 1984 – 1994
- Altmann, H.W. (1984)  
*Neubildungen der Leber.*  
Verh Dtsch Krebs Ges, 5, 423 – 435
- Aoki, K., Okazaki, N., Okada, S., Nose, H., Yoshimori, M. (1994)  
*Radiotherapy for hepatocellular carcinoma: clinicopathological study of seven autopsy cases.*  
Hepatogastroenterology, 41, 427 – 431
- Atiq, O.T., Kemeny, N., Niedzwiecki, D., Botet, J. (1991)  
*Treatment of unresectable primary liver cancer with intrahepatic fluorodeoxyuridine and mitomycin C through an implantable pump.*  
Cancer, 69, 920 – 924
- Bartkowski, R., Köhler, H., Bastian, P., Kissel, T. (1997)  
*Neuartige Mikrosphären zur Chemoembolisation von Lebermetastasen: Experimentelle Untersuchung am Novikoff-Hepatom der Ratte.*  
Langenbecks Arch Chir I (Forumband), 114, 319 – 323
- Beahrs, O. (1992)  
*Liver (including intrahepatic bile duct). 89 – 91*  
In: American Joint Committee on Cancer: Manual for staging of cancer;  
CP Lippincott, Philadelphia

- Belghiti, J., Menu, Y., Musset, D., Valla, D., Nahum, H., Fekete, F. (1985)  
*A qui s'adresse la chirurgie de hepatocarcinomes sur cirrhose?*  
 Gastroenterol Clin Biol, 9, 116A
- Belli, L., Magistretti, G., Puricelli, G.P., Damiani, G., Colombo, E., Cornalba, G.P.  
 (1997)  
*Arteritis following intra-arterial chemotherapy for liver tumors.*  
 Eur Radiol, 7, 323 – 326
- Blum, H.E., Pausch, J. (1987)  
*Tumoren der Leber.* 466 – 471  
 In: Gerok W: Hepatologie.  
 Urban & Schwarzenberg, München
- Blum, H.E., von Weizäcker, F., Walter, E. (1993)  
*Gentechnologie: medizinische Bedeutung.*  
 Dtsch Med Wochenschrift, 118, 629 – 633
- Börner, N., Clement, T., Herzog, P., Kreitner, K.F., Miltenberger, H., Schild, H.,  
 Meyer, J. (1990)  
*Farbkodierte Dopplersonographie primärer und sekundärer Lebertumoren.*  
 Ultraschall Med., 11, 274 – 280
- Börner, N., Schwerk, W.P., Braun, B. (1987)  
*Leber.* 70 – 73  
 In: Braun B, Günther R, Schwerk W: Ultraschalldiagnostik.  
 Eco-med Verlag, Landsberg
- Breedis, C., Young, G. (1954)  
*The blood supply of neoplasms in the liver.*  
 Am J Pathol, 30, 969 – 985
- Bronowicki, J.P., Boudjema, K., Chone, L., Nisand, G., Bazin, C. (1996)  
*Comparison of resection, liver transplantation and transcatheter oily  
 chemoembolisation in the treatment of hepatocellular carcinoma.*  
 J Hepatol, 24, 293 – 300
- Bruix, J., Cicera, I., Calvet, X., Fuster, J., Bru, C. (1992)  
*Surgical resection and survival in western patients with hepatocellular  
 carcinoma.*  
 J Hepatol, 15, 350 – 355
- Bundschu, H.D., Hust, W., Preim, D. (1992)  
*Abdominelle Ultraschalldiagnostik in der Praxis.* 48  
 Hippokrates, Stuttgart

- Carlsson G., Gullenberg B., Hafstrom L. (1983)  
*Estimation of liver tumor volume using different formulas - an experimental study in rats.*  
 J Cancer Res Clin Oncol 105, 20 – 23
- Caselmann, W.H., Blum H.E., Fleig W.E., Huppert P.E., Ramadori G., Schirmacher P., Sauerbruch T. (1999)  
*Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs und Stoffwechselkrankheiten zur Diagnostik und Therapie des hepatozellulären Karzinoms.*  
 Z-Gastroenterol, 37, 353 - 365
- Castells, A., Bruix, J., Bru, C., Ayuso, C., Roca, M. (1995)  
*Treatment of hepatocellular carcinoma with tamoxifen: a double-blind placebo-controlled trial in 120 patients.*  
 Gastroenterology, 109, 917 – 922
- Cheisilpa, A., Leelasethakul, S., Auethaveekiat, V., Maoleekulpriroj, S., Kangsumrit, N. (1989)  
*High-dose Mitomycin C: Activity in hepatocellular carcinoma .*  
 Cancer Chemother Pharmacol, 24, 50 – 53
- Chung, S.W., Toth, T.L., Rezieg, M., Cameron, R., Taylor, B.R. (1994)  
*Liver transplantation for hepatocellular carcinoma.*  
 Am J Surg, 167, 317 – 321
- Classen, M., Diehl, V., Kochsiek, K. (1991)  
*Innere Medizin.*  
 Urban & Schwarzenberg, München
- Cochran, W.G., Cox G. M. (1957)  
*Experimental designs.*  
 John Wiley 2, New York
- Colleoni, M., Liessi, G., Mastrapasqua, G., Nelli, P., Vicario, G., Sgarbossa, G., Pancheri, F., Manente, P. (1997)  
*Intra-arterial chemotherapy followed by chemo-embolisation in unresectable hepatocellular carcinoma.*  
 Eur J Cancer, 33, 56 – 60
- Colombo, M. (1992)  
*Hepatocellular carcinoma.*  
 J Hepatol, 15, 225 – 236
- Denk, H. (1996)  
*Hepatozelluläres Karzinom, 696 - 697*  
 In: Böcker W., Denk H., Heitz Ph.U.: Pathologie  
 Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore

- Dold, U., Hermanek, T., Höffken, K., Sack, H. (1993)  
*Praktische Tumortherapie.* 272 – 277  
 Thieme, Stuttgart
- Dunnet, C. W. (1955)  
*A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control.*  
 J Am Stat Assoc 50, 1096 – 1121
- Falkson, G., Coetzer, B. (1988)  
*Chemotherapy of primary liver cancer.* 321 – 326  
 In: Ikuda, K., Ishal, K. G.: Neoplasms of the liver.  
 Springer, Heidelberg
- Falkson, G., Ryan, L.M., Johnson, L.A., Simson, I.W. (1987)  
*A random phase II study of mitoxantrone and cisplatin in patients with hepatocellular carcinoma. An ECOG study.*  
 Cancer, 60, 2141 – 2145
- Farinati, F., De Maria, N., Marafin, C., Herszényi, L., Del Prato, S., Rinaldi, M., Perini, L., Cardin, R., Naccarato, R. (1996)  
*Unresectable hepatocellular carcinoma in cirrhosis.*  
 Dig Dis Sci, 41, 2332 – 2339
- Forth, W., Henschler, D., Rummel, W., Starke, K. (1992)  
*Pharmakologie und Toxikologie.*  
 BI-Wissenschaftsverlag, Mannheim, Leipzig, Wien, Zürich
- Gershbein L.L., Elias H. (1954)  
*Observations on the anatomy of the rat liver.*  
 Anat Rec, 120, 85 – 98
- Govan, A.D.T., Macfarlane, P.S., Callander, R. (1993)  
*Spezielle Pathologie.*  
 Springer, Berlin
- Gunnarsson, K., Nilsson, B. (1995)  
*Experimental and clinical basis for practical guidelines for the use of Spherex<sup>â</sup>.*  
 67 - 72  
 In: Kemeny, N.: An update on regional treatment of liver tumours: The role of vascular occlusion  
 Wells Medical Ltd, Kent

- Hakansson, L. (1995)  
*Drug targeting through DSM-induced temporary vascular occlusion – the mode of action.* 47 - 57  
 In: Kemeny, N.: An update on regional treatment of liver tumours: The role of vascular occlusion  
 Wells Medical Ltd, Kent
- Häussinger, D. (1991)  
*Tumoren der Leber.* 74 – 76  
 In: Zöllner N.: Innere Medizin.  
 Springer, Berlin
- Hayashi, N., Yamamoto, K., Tamaki, N. (1987)  
*Metastatic nodules of hepatocellular carcinoma: detection with angiography, CT and US.*  
 Radiology, 165, 61– 63
- Hebel R, Stromberg MW (1976)  
*Anatomy and Embryology of the Laboratory Rat.*  
 BioMed, Wörthsee
- Herfarth, C., Senninger, N. (1992)  
*Maligne Neoplasien.* 758 –759  
 In: Allgöwer, M., Siewert, J.R.: Chirurgie.  
 Springer, Berlin
- Hirai, K., Aoki, Y., Majima, Y. (1991)  
*Magnetic resonance imaging of small hepatocellular carcinoma.*  
 Am J Gastroenterol, 86, 205 – 209
- Holzapfel, P. (1993)  
*Tumoröse Veränderungen im Bereich der Leber.* 1987 – 2006  
 In: Zimmermann W., Frank N.: Ultraschall Bd. 8.,  
 Dustri, München-Deisenhofen.
- Honda, H., Onitsuka, H., Murakami, J., Kaneko, K., Murayama, S., Adachi, E., Kanematsu, T., Sugimachi, K., Masuda, K. (1992)  
*Characteristic findings of hepatocellular carcinoma: an evaluation with comparative study of US, CT and MRI.*  
 Gastrointest Radiol, 17, 245 – 249
- Honda, N., Guo, Q., Uchida, H., Ohishi, H., Hiasa, Y. (1994)  
*Percutaneous hot saline injektion therapy for hepatic tumors: an alternative to percutaneous ethanol injektion.*  
 Radiology, 190, 53 – 57

- Huppert, P.E., Viebahn, R., Duda, S.H., Lauchart, W. (1994a)  
*Interventionell-radiologische Therapieverfahren beim Hepatozellulären Karzinom.*  
 Zentralbl Chir, 119, 787 – 793
- Huppert, P.E., Geißler, F., Duda, S.H., Lauchart, W., Dette, S., Dietz, K., Brambs, H.J., Claussen, C.D. (1994b)  
*Chemoembolisation des hepatozellulären Karzinoms: Computertomographische Befunde und klinische Resultate bei prospektive repetitiver Therapie.*  
 Fortschr. Röntgenstr. 160, 425 – 432
- Imari, Y., Sakamoto, S., Shiomichi, S., Isobe, H., Ikeda, M., Satho, M., Nawata, H. (1992)  
*Hepatocellular carcinoma not detected with plain US: treatment with percutaneous ethanol injection under guidance with enhanced US.*  
 Radiology, 185, 497 – 500
- Iwamiya, T., Sawada, S., Ohta, Y. (1994)  
*Repeated arterial infusion chemotherapy for inoperable hepatocellular carcinoma using an implantable drug delivery system.*  
 Cancer Chemother Pharmacol, 33 Suppl: 134 – 138
- Iwatsuki, S., Starzl, T.E., Sheahan, D.G., Yokoyama, I., Demetris, A.J., Todo, S., Tzakis, A.G., van Thiel, A.H., Carr, B., Selby, R., Madarigada, J. (1991)  
*Hepatic resection versus transplantation for hepatocellular carcinoma.*  
 Ann Surg, 214, 221 – 229
- Jauch, K.W. (1993)  
*Maligne Tumoren der Leber. 121 – 131*  
 In: Jauch, K.W.: Gastrointestinale Tumoren.  
 Schriftenreihe Tumorzentrum, München
- Kanematsu, T., Matsumata, T., Furuta, T., Shirabe, K., Yamagata, M. (1990)  
*Lipiodol drug targeting in the treatment of primary hepatocellular carcinoma.*  
 Hepatogastroenterology, 37, 442 – 444
- Kawamura, Y., Endo, K., Watanabe, Y., Saga, T., Nakai, T., Hikita, H., Kagawa, K., Konishi, J. (1990)  
*Use of magnetic particles as a contrast agent for MR imaging of the liver.*  
 Radiology, 174, 357 – 390
- Kawasaki, S., Makuuchi, M., Miyagawa, S., Kakazu, T., Hayashi, K. (1995)  
*Results of hepatic resection for hepatocellular carcinoma.*  
 World Surg, 19, 31 – 34

- Kawai, S., Okamura, J., Ogawa, M., Ohashi, Y., Tani, M., Inoue, J., Kawarada, Y., Kusano, M., Kubo, Y., Kuroda, C., Sakata, Y., Shimamura, Y., Jinno, K., Takahashi, A., Tamura, K., Nagasue, N., Nakanishi, Y., Makino, M., Masuzawa, M., Mikuriya, S., Monden, M., Yumoto, Y., Mori, T., Oda, T., The Cooperative Study Group for Liver Cancer Treatment of Japan (1992)  
*Prospective and randomized clinical trial for the treatment of hepatocellular carcinoma – a comparison of lipiodol-transcatheter arterial embolization with and without Adriamycin (first cooperative study).*  
Cancer Chemother Pharmacol 31, S1 – S6
- Kim, T., Murakami, T., Oi, H., Matsushita, M., Kishimoto, H., Igarashi, H., Nakamura, H., Okamura, J. (1995)  
*Detection of hypervascular hepatocellular carcinoma by dynamic MRT and dynamic spiral CT.*  
J Comput Assist Tomogr, 19, 948 – 954
- Klopp, C.T., Alfredo, C., Batemann, J., Berry N., Winship, T. (1950)  
*Fractionated intraarterial cancer chemotherapy with menthyl bis-amine hydrochloride. A preliminary report.*  
Ann Surg 132, 811
- Konno T., Maeda H., Iwai K. (1985):  
*Selective targeting of anticancer drug and simultaneous imaging enhancement in solid tumors by arterial administered lipid contrast medium.*  
Cancer 54, 2367 - 2374
- Kosuge, T., Macuuchi, M., Takayama, T., Yamamoto, J., Shimada, K., Yamasaki, S. (1993)  
*Long-term results after resection of hepatocellular carcinoma: experience of 480 cases.*  
Hepatogastroenterolgy, 40, 328 – 332
- Lai, C.L., Wu, P.C., Chan, G.C.B., Lok, A.S.F., Lin, H.J. (1988)  
*Doxorubicin versus no antitumor therapy in inoperable hepatocellular carcinoma. A prospectiv randomized trial.*  
Cancer, 62, 479 – 483
- Livraghi, T. (1993)  
*Ultrasound guided percutaneous ethanol injektion therapy of hepatic tumors and metastases.*  
Z Gastroenterol, 31, 260 – 264
- Livraghi, T., Bolondi, L., Buscarini, L., Cottone, M., Mazziotti, A. (1995)  
*No treatment, resection and ethanol injektion in hepatocellular carcinoma: A retrospective analysis of survival in 391 patients with cirrhosis.*  
J Hepatol, 22, 522 – 526

- Livraghi, T., Bolondi, L., Lazzaroni, S., Marin, G., Morabito, A. (1992)  
*Percutaneous ethanol injection in the treatment of hepatocellular carcinoma in cirrhosis.*  
 Cancer, 69, 925 – 929
- Lui, W.Y., Chang, G.Y., Loong, C.C., Tsay, S.H., Wu, J.C. (1995)  
*Hepatic segmentectomy for curative resection of primary hepatocellular carcinoma.*  
 Arch Surg, 130, 1090 – 1097
- Maier, K.P. (1995)  
*Hepatitis – Hepatitisfolgen, Praxis der Diagnostik. Therapie und Prophylaxe akuter und chronischer Lebererkrankungen.* 240 – 257  
 Thieme, Stuttgart
- Matusi, O., Kadoya, M., Kameyama, T., Yoshikawa, J., Arai, K., Gabata, T., Takashima, T., Nakanuma, Y., Terada, T. (1989)  
*Adenomatous hyperplastic nodules in the cirrhotic liver: Differentiation from hepatocellular carcinoma with MR imaging.*  
 Radiology, 173, 123 – 126
- Merine, D., Takayasu, K., Wakao, F. (1990)  
*Detection of hepatocellular carcinoma: comparison of CT during arterial portography with CT after intraarterial injection of iodized oil.*  
 Radiology, 175, 707 – 710
- Mori, W., Masuda, M., Miyomaga, T. (1966)  
*Hepatic artery ligation and tumor necrosis in the liver.*  
 Surgery 59, 359 – 363
- Morris, H.P., Slaughter, L.J. (1978)  
*Historical development of transplantable hepatomas.*  
 In: Morris, H.P. and Criss, W.E.  
 Adv Exp Med Biol, Plenum Press, New York 92, 1 – 19
- Munoz, N., Bosch, X. (1987)  
*Epidemiology of hepatocellular carcinoma.*  
 In: Okuda, K., Ishak, K.G.: Neoplasms of the liver;  
 Springer, Berlin
- Muramatsu, Y., Nawano, S., Takayasu, K., Moriyama, N., Yamada, T., Yamasaki, S., Hirohashi, S. (1991)  
*Early hepatocellular carcinoma: MR imaging.*  
 Radiology, 181, 209 – 213

- Mutschler, E., Schäfer-Korting, M. (1996)  
*Arzneimittelwirkung.*  
 Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart
- Nagashima, I., Hamada, C., Naruse, K., Osada, T., Nagao, T. (1996)  
*Surgical resection for small hepatocellular carcinoma.*  
 Surgery, 119, 40 – 45
- Nagel, S.H., Bernadino, M.E. (1993)  
*Contrast-enhanced MR imaging of hepatic lesions treated with percutaneous ethanol ablation therapy.*  
 Radiology, 189, 265 – 270
- Nakao, N., Uchida, H., Kamino, K., Nishimura, Y., Ohishi, H., Takayasu, Y., Nakamura, H., Kuroda, C., Fujita, M., Yoshioka, H., Ishida, O. (1992)  
*Effectiveness of Lipiodol in transcatheter arterial embolization of hepatocellular carcinoma.*  
 Cancer Chemother Pharmacol 31; (Suppl I) 72 – 76
- Oi, H., Murakami, T., Kim, T. Matsushita, M., Kishimoto, H., Nakamura, H. (1996)  
*Dynamic MR imaging and early-phase helical CT for detecting small intrahepatic metastases of hepatocellular carcinoma.*  
 Am J Radiol., 166, 369 – 374
- Okamura, J., Kawai, S., Ogawa, M., Ohashi, Y., Tani, M., Inoue, J., Kawarada, Y., Kusano, M., Kubo, Y., Kuroda, C., Sakata, Y., Shimamura, Y., Jinno, K., Takahashi, A., Tamura, K., Nagasue, N., Nakanishi, Y., Makino, M., Masuzawa, M., Mikuriya, S., Monden, M., Yumoto, Y., Mori, T., Oda, T., The Cooperative Study Group for Liver Cancer Treatment of Japan (1992)  
*Prospective and randomized clinical trial for the treatment of hepatocellular carcinoma – a comparison of L-TAE with Farmorubicin and L-TAE with Adriamycin (second cooperative study).*  
 Cancer Chemother Pharmacol, 31, (Suppl I) 20 – 24
- Okuda, K., Ohtsuki, T., Obata, H., Tomimatsu, M., Okazaki, N. (1985)  
*Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment.* Cancer, 56, 918 – 928
- Paraskevopoulos, J.A. (1994)  
*Management options for primary hepatocellular carcinoma.*  
 Acta oncol. (Madr.) 33, 895 – 900
- Pfeiffer, U. (1993)  
*Pathologie der Tumoren und tumorartigen Läsionen der Leber. 3 – 7*  
 In: Reiser, M., Steudel, A., Hirner, A., Kania, U.: Lebertumoren und portale Hypertension.  
 Springer, Berlin

- Pichlmayr, R., Weimann, A., Lamesch, P., Ringe, B. (1994)  
*Liver transplantation for hepatocellular carcinoma and additional reference to bench surgery.*  
 J Hepatol Bil Pancr Surg, 2, 133 – 140
- Pugh, R.N.H., Murray-Lyon, I.M., Dawson, J.L., Pietroni, M.C., Williams, R. (1973)  
*Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices.*  
 Br J Surg., 60, 646 – 649
- Raoul, J.L., Guyader, D., Bretagne, J.F., Duvauferrier, R., Bourguet, P. (1994)  
*Randomized controlled trial for hepatocellular carcinoma with portal vein thrombosis: intra-arterial iodine-131-iodized oil versus medical support.*  
 J Nuc Med, 35, 1782 – 1787
- Raoul, J.L., Heresbach, D., Bretagne, J.F., Bentue Ferrer, D., Duvauferrier, R., Bourguet, P., Messner, M., Gosselin, M. (1992)  
*Chemoembolization of hepatocellular carcinomas. A study of the biodistribution and pharmacokinetics of doxorubicin.*  
 Cancer, 70, 585 – 590
- Reinwald, H. (1997)  
*Diagnostik und Therapie des Hepatozellulären Karzinoms.*  
 Medizinische Klinik, 92, 663 – 674
- Rettenmeier, G., Seitz, K.H. (1992)  
*Fokale Leberveränderungen.* 80 – 89  
 In: Sonographische Differentialdiagnostik.  
 VCH-Verlag, Weinheim
- Ringe, B., Pichlmayr, R., Wittekind, C., Tusch, G. (1991)  
*Surgical treatment of hepatocellular carcinoma: experience with liver resection and transplantation in 198 patients.*  
 World J Surg., 15, 270 – 285
- Sanchez A, Villamayor B, Guo Y, McIver J, Alonso MJ (1999)  
*Formulation strategies for the stabilization of tetanus toxoid in poly (lactide-co-glycolide) microspheres.*  
 Int J Pharm 185, 255 -266
- SAS/STAT User's Guide, Version 6, Fourth Edition, Volume 2 (1998)  
 SAS Institute, Cary, NC, USA
- Schaefer, C., Prokop, M., Reimer, P., Pichlmayr, R. (1995)  
*Resezierbarkeit maligner Lebertumoren – Bedeutung der präoperativen Bildgebung.* 61 – 68  
 In: Reiser, M., Steudel, A., Hirner, A., Kania, U.: Lebertumoren und portale Hypertension.  
 Springer, Berlin

- Schalhorn, A., Jauch, K.W. (1994)  
*Leberkarzinom.* 554 – 562  
 In: Wilmanns W, Huhn D, Wilms K: Internistische Onkologie.  
 Thieme, Stuttgart
- Schörner, W., Neumann, K., Langer, M., Heim, T., Keck, H., Felix, R. (1991)  
*Zur Differentialdiagnostik von Lebermetastasierung und regionaler  
 Leberverfettung: Vergleich von CT und MRT.*  
 Fortschr Röntgenstr, 154, 628 – 633
- Segall, H.N. (1923)  
*An experimental anatomical investigation of the blood and bile channels of the  
 liver.*  
 Surg Gynecol Obstet, 37, 152 – 178
- Shichijo Y, Inoue Y (1985)  
*Embolisierung der Arteria hepatica bei primären hepatocellulären Karzinomen.*  
 Fortschr. Röntgenstr. 143, 63 – 68
- Simonetti, R.G., Camma, C., Fiorello, F., Politi, F., D'Amico, G., Pagliaro, L. (1991)  
*Hepatocellular carcinoma. A worldwide problem and the major risk factors.*  
 Dig Dis Sci, 36, 962 – 972
- Stern, W., Braunschweig, R., Dabidian, R., Lauchart, W., Mergenthaler, M., Claussen,  
 C. (1994)  
*Kontrastverstärkte farbkodierte Duplexsonographie der Leber.*  
 Bildgebung, 61, (Suppl 2), 16
- Sugiura, N., Takara, K., Otho, M., Okuda, K., Hirooka, N. (1983)  
*Percutaneous intratumoral injection of small hepatocellular carcinoma.*  
 Acta Hepatol Jpn, 24, 920 – 925
- Suarez S, O'Hara P, Kazantseva M, Newcomer CE, Hopfer R, McMurray DN, Hickey  
 AJ (2001)  
*Airways delivery of rifampicin microparticles for treatment of tuberculosis.*  
 J Antimicrob Chemother 48, 431 - 434
- Tabenaka, K., Kawahara, N., Yamamoto, K., Kajiyama, K., Maeda, T. (1996)  
*Results of 280 liver resections for hepatocellular carcinoma.*  
 Arch Surg, 131, 71 – 76
- Taguchi T, Khayat D (1995)  
*Clinical assessment of Spherex<sup>®</sup>.* 75 - 85  
 In: Kemeny, N.: An update on regional treatment of liver tumours: The role of  
 vascular occlusion  
 Wells Medical Ltd, Kent

- Taguchi, T., Ogawa, N., Bunke, B. (1992)  
*The use of degradable starch microspheres (Spherex®) with interarterial chemotherapy for the treatment of primary and secondary liver tumours – results of a phase III clinical trial.*  
 Reg Cancer Treat, 4, 161 – 165
- Takano, S., Yokosuka, O., Imazeki, F., Tagawa, M., Omata, M. (1995)  
*Incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B and C: A prospective study of 251 patients*  
 Hepatology, 21, 650 – 655
- Taylor, I., Bennett, R., Sheriff, S. (1979)  
*The blood supply of colorectal liver metastases.*  
 Br J Cancer 39, 749
- Teder H, Christensson PI, Aronsen, Lewan L, Ljungberg J, Stenram U (1985)  
*Hepatic artery administration of degradable starch microspheres.*  
 Res Exp Med 185, 405 – 414
- Teder H, Erichsen C, Christensson PI, Jönsson PE, Lewan L, Stenram U (1987)  
*Hepatic artery administration of degradable starch microspheres.*  
 Res Exp Med 187, 153 - 158
- The Liver Cancer Study Group of Japan (1990)  
*Primary liver cancer in Japan. Clinicopathologic features and results of surgical treatment.*  
 Ann Surg, 211, 227 – 287
- Thonprasert, S., Klunklin, K., Phornphutkul, K. (1988)  
*Phase II study of ifosfamide (holoxan) in hepatoma.*  
 Eur J Cancer Clin Oncol, 24, 1795 – 1796
- Tobe, T., Arii, S. (1992)  
*Improving survival after resection of hepatocellular carcinoma: characteristics and current status of surgical treatment of primary liver cancer in japan.*  
 In: Tobe, T., Kaneda, H., Okudaira, M., Otho, M., Endo, Y.: Primary liver cancer in Japan.  
 Springer, Tokyo
- Tomasz, M. (1995)  
*Mitomycin C: small, fast and deadly (but very selective).*  
 Chem Biol, 2, 575 – 579
- Trübenbach, J., Huppert, P., Teder, H., Pereira, P., Rau, O., Claussen, C. (1996)  
*Etablierung eines Tiermodells zur transarteriellen Leberperfusion.*  
 Fortschr. Röntgenstr., 165, 319

- Trubenbach J, Graepler F, Pereira PL, Ruck P, Lauer U, Gregor M, Claussen CD, Huppert PE (2000)  
*Growth characteristics and imaging properties of the morris hepatoma 3924A in ACI rats: a suitable model for transarterial chemoembolization*  
 Cardiovasc 23, 211-217
- Tuma, R.F.(1984)  
*The use of degradable starch mikrospheres for transient occlusion of blood flow and drug targeting to selected tissues.* 189 – 203  
 In: Davis S.S.: Microspheres and drug therapy. Pharmaceutical, immunological and medical aspects  
 Elsevier Science Publishers B.V.
- Uchida H., Matsuo N., Sakaguchi H., Nagano N., Nishimine K., Ohishi H. (1993)  
*Segmental embolotherapy for hepatocellular carcinoma.*  
 Cardiovasc Intervent Radiol 16, 67 - 71
- Vilana, R., Bruix, J., Bru, C., Ayuso, C., Sole, M., Rodes, J. (1992)  
*Tumor size determines the efficacy of percutaneous ethanol injection for the treatment of small hepatocellular carcinoma.*  
 Hepatology, 16, 353 – 357
- Wallner, I., Hartmann, H., Ramadori, G. (1994)  
*Aktuelle Therapiestrategien für das hepatozelluläre Karzinom. Teil 1 und 2.*  
 Leber Magen Darm 24, 150 – 154 und 189 – 201
- Wanebo, H.J., Falkson, G., Order, S.E.(1989)  
*Hepatocellular carcinoma: Cancer of the hepatobiliary system.* 836 – 856  
 In: De Vita, V.T., Helman, S., Rosenberg, S.A.: Principles and practice of oncology in cancer.  
 Lippincott, Philadelphia
- Watanabe, A., Yamamoto, H., Ito, T., Nagashima, H. (1986)  
*Diagnosis, treatment and prognosis of small hepatocellular carcinoma*  
 Hepatogastroenterology, 33, 52 – 55
- Watkins, E., Sullivan, R.D. (1964)  
*Cancer chemotherapy by prolonged arterial infusion.*  
 Surg Gynecol Obstet, 118, 3 – 19
- Weiss, H. (1991)  
*Sonographische Artdiagnostik tumoröser Leberveränderungen.*  
 Ultraschall in Klin. u. Prax., 8, 257 – 271
- Wils, J. (1993)  
*Hepatozelluläres Karzinom.* 214 – 219  
 In: Seeber, S., Schütte, J.,: Therapiekonzepte Onkologie.  
 Springer, Berlin

- Woltmann, A., Wünsch, P.H., Broll, R., Bruch, H.P. (1995a)  
*Stellenwert der feingeweblichen Untersuchung in der Diagnostik benigner und maligner Lebertumoren.* 8 – 13  
 In: Reiser, M., Steudel, A., Hirner, A., Kania, U.: Lebertumoren und portale Hypertension.  
 Springer, Berlin
- Woltmann A, Wünsch PH, Broll R, Bruch HP (1995b)  
*Das primäre Leberzellkarzinom – eine Bestandsaufnahme.* 126 – 130  
 In: Reiser, M., Steudel, A., Hirner, A., Kania, U.: Lebertumoren und portale Hypertension.  
 Springer, Berlin
- Wright, R.D. (1937)  
*The blood supply of newly developed epithelial tissue in the liver.*  
 J Pathol Bacteriol 45, 405 – 414
- Yamanaka, N., Okamoto, E. (1989)  
*Conditions favoring long – term survival after hepatoectomy for hepatocellular carcinomas.*  
 Cancer Chemother Pharmacol, 23, 83 – 86
- Yamasaki, S., Hasegawa, H., Makuuchi, M., Takayama, T., Kosuge, T., Shimada, K. (1991)  
*Choice of treatments for small hepatocellular carcinoma: Hepatectomy, embolization or ethanol injection.*  
 J Gastroent Hepatol, 6, 408 – 413
- Yamashita, Y., Takahashi, M., Koga, Y., Saito, R., Nanakawa, S., Hatanaka, Y., Sato, N., Nakashima, K., Urata, J., Yoshizumi, K., Ito, K., Sumi, S., Kann, M. (1991)  
*Prognostic factors in the treatment of hepatocellular carcinoma with transcatheter arterial embolization and arterial infusion.*  
 Cancer 385 – 391
- Yang, R., Rescorla, F.J., Reilly, C.R., Faught, P.R., Sanghvi, N.T., Lumeng, L., Franklin, T.D. Jr, Grosfeld, J.L. (1992)  
*A reproducible rat liver cancer model for experimental therapy.*  
 J of Surg Res, 52, 193 – 198
- Yumoto, Y., Jinno, K., Tokuyama, K. (1985)  
*Hepatocellular carcinoma detected by iodized oil.*  
 Radiology, 154, 19 – 24
- Zieren, H.U., Pichelmaier, H. (1991)  
*Hepatobiliäre Malignome.* 422 – 435  
 In: Pichlmaier, H., Müller, M., Jonen-Thielemann: Palliative Krebstherapie.  
 Springer, Berlin

Zieren, J., Zieren, H.U., Müller, J.M. (1994)  
*Leberresektionen wegen primärer Malignome. Eigene Ergebnisse und  
Literaturanalyse.*  
Langenbecks Arch Chir, 379, 159 – 167

## 10. Anhang

### 10.1. Einzelwerte des Teils A der Arbeit

#### Therapiegruppe K1: Kontrollgruppe KI

| Reihe                  | Unter-Gruppe | Tier Nr. | Volumen MR 1 [cm <sup>2</sup> ] | log(MR1) | Volumen MR2 [cm <sup>2</sup> ] | log(MR2) | Volumen-zunahme MR2-MR1 |
|------------------------|--------------|----------|---------------------------------|----------|--------------------------------|----------|-------------------------|
| R1                     | II           | 1        | 0,0320                          | -3,4420  | 0,1440                         | -1,9379  | 0,1120                  |
| R1                     | II           | 2        | 0,0400                          | -3,2189  | 0,8000                         | -0,2231  | 0,7600                  |
| R1                     | II           | 3        | 0,0180                          | -4,0174  | TOD                            | TOD      | TOD                     |
| R1                     | II           | 4        | 0,0400                          | -3,2189  | 0,9000                         | -0,1054  | 0,8600                  |
| R1                     | II           | 5        | 0,0135                          | -4,3051  | 0,5500                         | -0,5978  | 0,5365                  |
| Durchschnitt           |              |          | 0,0287                          | -3,6404  | 0,5985                         | -0,7161  | 0,5671                  |
| Varianz s <sup>2</sup> |              |          | 0,0002                          | 0,2447   | 0,1135                         | 0,7076   | 0,1104                  |
| Standardabweichung s   |              |          | 0,0124                          | 0,4946   | 0,3369                         | 0,8412   | 0,3322                  |

#### Therapiegruppe A: Ligatur

| Reihe                  | Unter-Gruppe | Tier Nr. | Volumen MR 1 [cm <sup>2</sup> ] | log(MR1) | Volumen MR2 [cm <sup>2</sup> ] | log(MR2) | Volumen-zunahme MR2-MR1 |
|------------------------|--------------|----------|---------------------------------|----------|--------------------------------|----------|-------------------------|
| R1                     | I            | 6        | Kein TU                         | Kein TU  | Kein TU                        | Kein TU  | kein TU                 |
| R1                     | I            | 7        | 0,0560                          | -2,8824  | 0,3840                         | -0,9571  | 0,3280                  |
| R1                     | I            | 8        | 0,0400                          | -3,2189  | 0,1800                         | -1,7148  | 0,1400                  |
| R1                     | I            | 9        | 0,0180                          | -4,0174  | 0,3840                         | -0,9571  | 0,3660                  |
| R1                     | I            | 10       | 0,0180                          | -4,0174  | 0,1440                         | -1,9379  | 0,1260                  |
| Durchschnitt           |              |          | 0,0330                          | -3,5340  | 0,2730                         | -1,3917  | 0,2400                  |
| Varianz s <sup>2</sup> |              |          | 0,0003                          | 0,3304   | 0,0166                         | 0,2602   | 0,0155                  |
| Standardabweichung s   |              |          | 0,0185                          | 0,5748   | 0,1290                         | 0,5101   | 0,1247                  |

#### Therapiegruppe B: Lipiodol®

| Reihe                  | Unter-Gruppe | Tier Nr. | Volumen MR 1 [cm <sup>2</sup> ] | log(MR1) | Volumen MR2 [cm <sup>2</sup> ] | log(MR2) | Volumen-zunahme MR2-MR1 |
|------------------------|--------------|----------|---------------------------------|----------|--------------------------------|----------|-------------------------|
| R1                     | III          | 11       | 0,1440                          | -1,9379  | 2,0580                         | 0,7217   | 1,9140                  |
| R1                     | III          | 12       | 0,0750                          | -2,5903  | 1,2960                         | 0,2593   | 1,2210                  |
| R1                     | III          | 13       | 0,0320                          | -3,4420  | 0,2450                         | -1,4065  | 0,2130                  |
| R1                     | III          | 14       | 0,0560                          | -2,8824  | 0,9680                         | -0,0325  | 0,9120                  |
| R1                     | III          | 15       | 0,0320                          | -3,4420  | 0,7260                         | -0,3202  | 0,6940                  |
| Durchschnitt           |              |          | 0,0678                          | -2,8589  | 1,0586                         | -0,1556  | 0,9908                  |
| Varianz s <sup>2</sup> |              |          | 0,0021                          | 0,4002   | 0,4590                         | 0,6372   | 0,4011                  |
| Standardabweichung s   |              |          | 0,0463                          | 0,6326   | 0,6775                         | 0,7983   | 0,6334                  |

## 10.2. Einzelwerte des Teils B der Arbeit

### Therapiegruppe C: Mitomycin C

| Reihe                  | Unter-Gruppe | Tier Nr. | Volumen MR1 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR1) | Volumen MR2 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR2) | Volumenzunahme MR2 / MR1 |
|------------------------|--------------|----------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|--------------------------|
| R2                     | I            | 16       | 0,0135                         | -4,30507          | 0,126                          | -2,0715           | 9,33                     |
| R3                     | I            | 17       | 0,04                           | -3,21888          | 0,162                          | -1,8202           | 4,05                     |
| R4                     | II           | 18       | Kein TU                        | Kein TU           | Kein TU                        | Kein TU           | Kein TU                  |
| R5                     | I            | 19       | 0,04                           | -3,21888          | 0,0625                         | -2,7726           | 1,56                     |
| R5                     | II           | 20       | 0,126                          | -2,07147          | 0,384                          | -0,9571           | 3,05                     |
| Durchschnitt           |              |          | 0,05488                        | -3,20357          | 0,18363                        | -1,9053           | 4,50                     |
| Varianz s <sup>2</sup> |              |          | 0,0024                         | 0,8318            | 0,01954                        | 0,56204           | 11,433883                |
| Standardabweichung s   |              |          | 0,04903                        | 0,91203           | 0,13977                        | 0,74969           | 3,3814026                |

### Therapiegruppe D: DSM

| Reihe                  | Unter-Gruppe | Tier Nr. | Volumen MR1 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR1) | Volumen MR2 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR2) | Volumenzunahme MR2 / MR1 |
|------------------------|--------------|----------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|--------------------------|
| R2                     | I            | 21       | 0,04                           | -3,21888          | 0,405                          | -0,9039           | 10,13                    |
| R2                     | II           | 22       | 0,006                          | -5,116            | 0,196                          | -1,6296           | 32,67                    |
| R3                     | I            | 23       | 0,006                          | -5,116            | 0,01                           | -4,6052           | 1,67                     |
| R4                     | II           | 24       | 0,108                          | -2,22562          | TOD                            | TOD               | TOD                      |
| R5                     | II           | 25       | 0,075                          | -2,59027          | 0,486                          | -0,7215           | 6,48                     |
| Durchschnitt x         |              |          | 0,047                          | -3,65335          | 0,27425                        | -1,9651           | 12,73                    |
| Varianz s <sup>2</sup> |              |          | 0,00198                        | 1,90899           | 0,04596                        | 3,25171           | 188,57176                |
| Standardabweichung s   |              |          | 0,04449                        | 1,38166           | 0,21439                        | 1,80325           | 13,732143                |

### Therapiegruppe E: Mitomycin C + DSM

| Reihe                  | Unter-Gruppe | Tier Nr. | Volumen MR1 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR1) | Volumen MR2 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR2) | Volumenzunahme MR2 / MR1 |
|------------------------|--------------|----------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|--------------------------|
| R2                     | II           | 26       | 0,001                          | -6,90776          | 0,1                            | -2,3026           | 100,00                   |
| R2                     | I            | 27       | 0,004                          | -5,52146          | 0,0875                         | -2,4361           | 21,88                    |
| R3                     | II           | 28       | Kein TU                        | Kein TU           | Kein TU                        | Kein TU           | Kein TU                  |
| R5                     | I            | 29       | 0,018                          | -4,01738          | 1,6875                         | 0,52325           | 93,75                    |
| R6                     | I            | 30       | 0,0135                         | -4,30507          | 1,96                           | 0,67294           | 145,19                   |
| Durchschnitt x         |              |          | 0,00913                        | -5,18792          | 0,95875                        | -0,8856           | 90,20                    |
| Varianz s <sup>2</sup> |              |          | 6,3E-05                        | 1,73956           | 1,01004                        | 2,94195           | 2600,1068                |
| Standardabweichung s   |              |          | 0,00796                        | 1,31892           | 1,00501                        | 1,71521           | 50,991242                |

Therapiegruppe F: Mitomycin C + Ligatur

| Reihe                  | Unter-Gruppe | Tier Nr. | Volumen MR1 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR1) | Volumen MR2 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR2) | Volumen-zunahme MR2 / MR1 |
|------------------------|--------------|----------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|---------------------------|
| R2                     | II           | 31       | 0,006                          | -5,116            | 0,144                          | -1,9379           | 24,00                     |
| R3                     | I            | 32       | 0,075                          | -2,59027          | 0,075                          | -2,5903           | 1,00                      |
| R4                     | I            | 33       | 0,0135                         | -4,30507          | 0,04                           | -3,2189           | 2,96                      |
| R5                     | II           | 34       | 0,075                          | -2,59027          | 0,2205                         | -1,5119           | 2,94                      |
| R6                     | I            | 35       | 0,04                           | -3,21888          | 0,196                          | -1,6296           | 4,90                      |
| Durchschnitt x         |              |          | 0,0419                         | -3,56409          | 0,1351                         | -2,1777           | 7,16                      |
| Varianz s <sup>2</sup> |              |          | 0,00107                        | 1,24332           | 0,00593                        | 0,51386           | 90,515586                 |
| Standardabweichung s   |              |          | 0,03275                        | 1,11504           | 0,07703                        | 0,71684           | 9,5139679                 |

Therapiegruppe G: Mitomycin C + Lipiodol®

| Reihe                  | Unter-Gruppe | Tier Nr. | Volumen MR1 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR1) | Volumen MR2 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR2) | Volumen-zunahme MR2 / MR1 |
|------------------------|--------------|----------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|---------------------------|
| R2                     | I            | 36       | 0,004                          | -5,52146          | 0,0135                         | -4,3051           | 3,38                      |
| R3                     | I            | 37       | 0,018                          | -4,01738          | 0,162                          | -1,8202           | 9,00                      |
| R3                     | II           | 38       | 0,048                          | -3,03655          | 0,126                          | -2,0715           | 2,63                      |
| R4                     | I            | 39       | 0,0135                         | -4,30507          | 0,0135                         | -4,3051           | 1,00                      |
| R5                     | II           | 40       | 0,056                          | -2,8824           | 0,245                          | -1,4065           | 4,38                      |
| Durchschnitt x         |              |          | 0,0279                         | -3,95257          | 0,112                          | -2,7817           | 4,08                      |
| Varianz s <sup>2</sup> |              |          | 0,00052                        | 1,14355           | 0,00995                        | 1,99036           | 9,0984375                 |
| Standardabweichung s   |              |          | 0,02275                        | 1,06937           | 0,09974                        | 1,4108            | 3,0163616                 |

Therapiegruppe H: Mitomycin C + Lipiodol® + Ligatur

| Reihe                  | Unter-Gruppe | Tier Nr. | Volumen MR1 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR1) | Volumen MR2 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR2) | Volumen-zunahme MR2 / MR1 |
|------------------------|--------------|----------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|---------------------------|
| R2                     | I            | 41       | 0,004                          | -5,52146          | 0,04                           | -3,2189           | 10,00                     |
| R3                     | II           | 42       | 0,032                          | -3,44202          | 0,04                           | -3,2189           | 1,25                      |
| R3                     | II           | 43       | 0,018                          | -4,01738          | 0,018                          | -4,0174           | 1,00                      |
| R4                     | II           | 44       | 0,02225                        | -3,80541          | 0,0625                         | -2,7726           | 2,78                      |
| R6                     | I            | 45       | 0,006                          | -5,116            | TOD                            | TOD               | TOD                       |
| Durchschnitt x         |              |          | 0,01645                        | -4,38045          | 0,04013                        | -3,3069           | 3,76                      |
| Varianz s <sup>2</sup> |              |          | 0,00014                        | 0,79652           | 0,00033                        | 0,26859           | 17,940058                 |
| Standardabweichung s   |              |          | 0,01164                        | 0,89248           | 0,01817                        | 0,51826           | 4,2355706                 |

Therapiegruppe I: Mitomycin C + DSM + Ligatur

| Reihe                  | Unter-Gruppe | Tier Nr. | Volumen MR1 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR1) | Volumen MR2 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR2) | Volumen-zunahme MR2 / MR1 |
|------------------------|--------------|----------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|---------------------------|
| R2                     | II           | 46       | 0,018                          | -4,01738          | 0,352                          | -1,0441           | 19,56                     |
| R3                     | II           | 47       | 0,018                          | -4,01738          | TOD                            | TOD               | TOD                       |
| R4                     | I            | 48       | 0,04                           | -3,21888          | 0,006                          | -5,116            | 0,15                      |
| R5                     | I            | 49       | 0,04                           | -3,21888          | 0,075                          | -2,5903           | 1,88                      |
| R6                     | I            | 50       | 0,0135                         | -4,30507          | 0,125                          | -2,0794           | 9,26                      |
| Durchschnitt x         |              |          | 0,0259                         | -3,75552          | 0,1395                         | -2,7075           | 7,71                      |
| Varianz s <sup>2</sup> |              |          | 0,00017                        | 0,25378           | 0,02245                        | 2,99196           | 77,972342                 |
| Standardabweichung s   |              |          | 0,013                          | 0,50377           | 0,14983                        | 1,72973           | 8,8301949                 |

Therapiegruppe J: Mitomycin C + Poly-Laktid-Co-Glycolid-Mikrosphären

| Reihe                  | Unter-Gruppe | Tier Nr. | Volumen MR1 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR1) | Volumen MR2 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR2) | Volumen-zunahme MR2 / MR1 |
|------------------------|--------------|----------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|---------------------------|
| R3                     | II           | 51       | 0,108                          | -2,22562          | 0,64                           | -0,4463           | 5,93                      |
| R4                     | I            | 52       | 0,126                          | -2,07147          | 0,018                          | -4,0174           | 0,14                      |
| R4                     | II           | 53       | 0,048                          | -3,03655          | 0,256                          | -1,3626           | 5,33                      |
| R5                     | I            | 54       | 0,108                          | -2,22562          | 0,006                          | -5,116            | 0,06                      |
| R6                     | I            | 55       | 0,018                          | -4,01738          | TOD                            | TOD               | TOD                       |
| Durchschnitt x         |              |          | 0,0816                         | -2,71533          | 0,23                           | -2,7356           | 2,86                      |
| Varianz s <sup>2</sup> |              |          | 0,00213                        | 0,67318           | 0,08797                        | 4,8118            | 10,254723                 |
| Standardabweichung s   |              |          | 0,0462                         | 0,82047           | 0,29659                        | 2,19358           | 3,2022997                 |

Therapiegruppe L: DSM + Ligatur

| Reihe                  | Unter-Gruppe | Tier Nr. | Volumen MR1 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR1) | Volumen MR2 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR2) | Volumen-zunahme MR2 / MR1 |
|------------------------|--------------|----------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|---------------------------|
| R2                     | I            | 56       | 0,04                           | -3,21888          | 0,125                          | -2,0794           | 3,13                      |
| R3                     | I            | 57       | 0,027                          | -3,61192          | 0,1                            | -2,3026           | 3,70                      |
| R4                     | I            | 58       | 0,04                           | -3,21888          | 0,237                          | -1,4397           | 5,93                      |
| R4                     | II           | 59       | 0,075                          | -2,59027          | TOD                            | TOD               | TOD                       |
| R5                     | II           | 60       | 0,0625                         | -2,77259          | 0,064                          | -2,7489           | 1,02                      |
| Durchschnitt x         |              |          | 0,0489                         | -3,08251          | 0,1315                         | -2,1426           | 3,45                      |
| Varianz s <sup>2</sup> |              |          | 0,00038                        | 0,16395           | 0,00557                        | 0,29708           | 4,0685966                 |
| Standardabweichung s   |              |          | 0,01939                        | 0,40491           | 0,07466                        | 0,54505           | 2,0170763                 |

Therapiegruppe M: Lipiodol® + Ligatur

| Reihe                  | Unter-Gruppe | Tier Nr. | Volumen MR1 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR1) | Volumen MR2 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR2) | Volumen-zunahme MR2 / MR1 |
|------------------------|--------------|----------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|---------------------------|
| R2                     | II           | 61       | 0,006                          | -5,116            | 0,006                          | -5,116            | 1,00                      |
| R3                     | II           | 62       | 0,0135                         | -4,30507          | 0,352                          | -1,0441           | 26,07                     |
| R4                     | II           | 63       | 0,0135                         | -4,30507          | TOD                            | TOD               | TOD                       |
| R5                     | I            | 64       | 0,056                          | -2,8824           | 0,125                          | -2,0794           | 2,23                      |
| R6                     | II           | 65       | 0,0135                         | -4,30507          | 0,144                          | -1,9379           | 10,67                     |
| Durchschnitt x         |              |          | 0,02050                        | -4,18272          | 0,15675                        | -2,54438          | 9,99405                   |
| Varianz s <sup>2</sup> |              |          | 0,00040                        | 0,65168           | 0,02067                        | 3,14930           | 133,38857                 |
| Standardabweichung s   |              |          | 0,02011                        | 0,80727           | 0,14378                        | 1,77463           | 11,54940                  |

Therapiegruppe KII: Kontrollgruppe II

| Reihe                  | Unter-Gruppe | Tier Nr. | Volumen MR1 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR1) | Volumen MR2 in cm <sup>3</sup> | log (Volumen MR2) | Volumen-zunahme MR2 / MR1 |
|------------------------|--------------|----------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------|---------------------------|
| R2                     | II           | 66       | 0,018                          | -4,01738          | 0,847                          | -0,1661           | 47,05                     |
| R4                     | I            | 67       | 0,048                          | -3,03655          | 1,7745                         | 0,57352           | 36,97                     |
| R5                     | I            | 68       | 0,315                          | -1,15518          | 0,234                          | -1,4524           | 7,43                      |
| R5                     | II           | 69       | 0,048                          | -3,03655          | 0,85                           | -0,1625           | 17,71                     |
| R6                     | I            | 70       | 0,018                          | -4,01738          | 0,32                           | -1,1394           | 17,78                     |
| R4                     | II           | 71       | 0,196                          | -1,62964          | 4,05                           | 1,39872           | 20,66                     |
| R6                     | II           | 72       | 0,032                          | -3,44202          | 1,352                          | 0,30158           | 42,25                     |
| Durchschnitt x         |              |          | 0,09643                        | -2,90496          | 1,34679                        | -0,0924           | 27,12                     |
| Varianz s <sup>2</sup> |              |          | 0,01314                        | 1,2477            | 1,71325                        | 0,96307           | 221,40294                 |
| Standardabweichung s   |              |          | 0,11462                        | 1,117             | 1,30891                        | 0,98136           | 14,879615                 |

## **11. Danksagungen**

Ich danke vor allen anderen Herrn PD Dr. P. E. Huppert für die Überlassung des Themas und die großzügige Unterstützung bei der Durchführung der Dissertation.

Herrn Prof. Dr. C. D. Claussen, der die Promotion in seiner Klinik ermöglichte.

Herrn Dr. J. Trübenbach und Herrn Dr. F. Gräpler für das Einlernen in die operativen Verfahren und die Unterstützung bei deren Durchführung.

Herrn Dr. Rau und allen Mitarbeitern des Tierstalls der Universität Tübingen bei der Versorgung der Versuchstiere.

Herrn C. Meissner vom Institut für medizinische Informationsverarbeitung für die Hilfe bei der Auswertung der Ergebnisse.

Herrn Dr. H. Teder für die Mithilfe bei der Etablierung des Therapieverfahrens

## 12. Lebenslauf

- 03.09. 1973: als zweites dreier Kinder des Oberpsychologierats Johannes Eul und seiner Ehefrau Regina, geb. Franzen in Koblenz geboren.
- 1980: Einschulung in die Grundschule Gottwollshausen/Gailenkirchen bei Schwäbisch Hall
- 1984: Übertritt in das Erasmus Widmann Gymnasium in Schwäbisch Hall
- 1993: Beendigung der Gymnasialzeit mit dem Abitur
- 01.09. 1993: Beginn des Zivildienstes als Rettungshelfer beim Deutschen Roten Kreuz Schwäbisch Hall/Crailsheim
09. 1994: Einschreibung im WS zum Medizinstudium an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen
- 05.09. 1996: Ärztliche Zwischenprüfung (Physikum) an vorbeschriebener Universität
- 28.08. 1997: Erster Teil des ärztlichen Staatsexamens
- 01.02. 1998: Beginn der Promotion
- 06.09.2000: Zweiter Teil des ärztlichen Staatsexamens
- 23.10.2000 -  
08.11.2001: Praktisches Jahr
1. Tertial Innere Medizin im Städtischen Krankenhaus Friedrichshafen
2. Tertial Chirurgie im Kantonalen Spital Grabs, Schweiz
3. Tertial Kinderheilkunde im Städtischen Krankenhaus Friedrichshafen
- 08.11.2001: Dritter Teil des ärztlichen Staatsexamens
- 01.12.2001 -  
31.05.2002: Arzt im Praktikum in der Medizinischen Klinik II (Kardiologie) des Städtischen Krankenhauses Friedrichshafen
- seit 01.06.2004 Assistenzarzt in der Medizinischen Klinik II (Kardiologie) des Städtischen Krankenhauses Friedrichshafen