

Steffi Winkler
Dr. med.

Additive intraoperative photodynamische Therapie des Kolon- und Rektumkarzinoms – Eine tierexperimentelle Studie –

Geboren am 22.12.1969 in Pforzheim
Reifeprüfung am 22.05.1992 in Pforzheim
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS1994 bis WS 2000
Physikum am 11.09.1996 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 14.11.2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Chirurgie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. J. Stern

Bis heute ist die Operation die Methode der Wahl zur kurativen Behandlung kolorektaler Karzinome. Postoperativ stellen lokoregionäre Rezidive das größte Problem dieser Erkrankung dar. Additive, bzw. adjuvante, klinisch etablierte Therapiemaßnahmen zur Rezidivvermeidung, beschränken sich hauptsächlich auf die Chemotherapie und die Radiatio. Diese Therapieverfahren sind jedoch mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden und können das rezidivfreie Überleben der Patienten nur bedingt verlängern.

In dieser tierexperimentellen Studie wurde, die bisher klinisch nicht etablierte, additive, intraoperative Photodynamische Therapie (AIOPDT) als mögliche Therapieoption zur Behandlung kolorektaler Karzinome untersucht und für den klinischen Einsatz vorbereitet. Das Prinzip der PDT beruht auf einer weitgehend selektiven, intratumoralen Anreicherung eines Photosensitizers (PS), resultierend in einer tumorspezifischen, intrazellulären Sauerstoffradikalbildung mit nachfolgender Tumorzelldestruktion.

In dieser tierexperimentellen Studie wurden die PS: Photofrin II, 5-Aminolävulinsäure (5-ALA/PpIX), meso-Tetrahydroxyphenylchlorin (mTHPC), mit dem makrogekoppelten PS meso-Tetrahydroxyphenylchlorin-Nitrophenylcarbonat-Polyethylenglykol (mTHPC-PEG), auf ihre Wirksamkeit in der experimentell additiven intraoperativen Photodynamischen Therapie (AIOPDT) zur Behandlung kolorektaler Karzinome überprüft. Der Therapieerfolg der AIOPDT wurde anhand der rezidivfreien Überlebenszeiten (RFÜ) der Tiere gemessen (follow-up: 6 Monate).

Die Tumoringokulation erfolgte auf SWISS CD1 Nacktmäusen durch subkutane Injektion von jeweils 4×10^6 CC531-Kolonkarzinomzellen (Adenokarzinom des Kolon; G2-G3) in den linken Hinterlauf. Nach Erreichen einer Tumorgöße von ca. 1 cm, erfolgte die intraperitoneale Applikation der jeweiligen PS (Photofrin II[®]: 5 mg/kg KG; 5-ALA 200 mg/kg KG; mTHPC und mTHPC-PEG jeweils 0,3 mg/kg KG) und nach einer PS-spezifischen Expositionszeit (Photofrin II 48 h; 5-ALA: 4 h; mTHPC und mTHPC-NPC-PEG: 72 h), die R1/R2-Resektion des Tumors.

Die Quantifizierung der PS-Akkumulation im Tumor, bzw. im gesunden Gewebe wurde durch spektrometrische Punktmessungen am jeweiligen maximalen Fluoreszenz-Emissionspeak bei 630 nm (Photofrin II), 635 nm (5-ALA/PpIX) und 652 nm (mTHPC und

mTHPC-NPC-PEG) in 2 Arealen des Tumors (Tumorbett und Tumorzentrum), in der Haut, sowie im Muskelgewebe (Referenzgewebe) bestimmt. Die Tumoroxygenierung (Sauerstoffpartialdruck-Messung), als möglicher Einflußfaktor auf das rezidivfreie Überleben konventionell resezierter Tiere (0,2,4,6 Liter Sauerstoffgabe), bzw. nach Durchführung der AIOPDT mit mTHPC unter Gabe von 6 Liter Sauerstoff, wurde vor, während und eine Minute nach der AIOPDT durchgeführt.

Die Bestrahlungsmodalitäten für die AIOPDT im Hauptversuch (5-ALA und Photofrin: 25 Joule, 250 sec. Bestrahlungszeit; mTHPC und mTHPC-NPC-PEG: 5 Joule, 50 sec. Bestrahlungszeit), wurden in Vorversuchsreihen ermittelt (5-ALA und Photofrin: 100/50 Joule; mTHPC und mTHPC-NPC-PEG: 30/15 Joule).

Die spektrometrischen Messungen zeigten für alle verwendeten PS ein ausreichend gutes, homogenes und intratumorales Anreicherungsverhalten. In Relation zum umliegenden, gesunden Muskelgewebe (1) wies mTHPC-NPC-PEG (24:1) im Vergleich zu Photofrin II[®] (1,2:1), 5-ALA (1,2:1) und mTHPC (1:1) wie erwartet, das höchste Akkumulationsverhalten im Tumorbett auf. Intratumoral waren bei allen PS keine, bzw. nur geringe Unterschiede in der PS-Distribution zwischen Tumorzentrum und -bett (Tumorrandbereich) erkennbar. Betrachtete man die systemische Biokinetik der PS, so fiel eine extreme Akkumulation von 5-ALA/PpIX in der Haut auf, welche im Vergleich zur Muskulatur das 14-fache erreichte.

Die rezidivfreie Überlebenszeit der Versuchstiere betrug in der Kontrollgruppe im Median 12 Tage. Unter Verwendung der PS mTHPC und mTHPC-NPC-PEG konnte das Auftreten von Rezidivtumoren durch die AIOPDT im Median auf 18 Tage, bzw. bei 5-ALA auf 16 Tage verzögert werden. Bei Photofrin II lag das mediane RFÜ bei 9 Tagen im Vergleich zur Kontrollgruppe und zeigte somit kein signifikant verlängertes RFÜ. Die längsten rezidivfreien Überlebenszeiten konnten nach Durchführung der AIOPDT mit mTHPC ermittelt werden. Die initial hohen Tiermortalitäten nach AIOPDT waren deutlich Laserenergie abhängig und konnten durch schrittweise Reduktion der applizierten Laserenergie minimiert werden.

Die Ergebnisse der intratumoralen Sauerstoffpartialdruck-Messungen lieferten wesentliche Zusammenhänge zwischen der Tumoroxygenierung und dem rezidivfreien Überleben nach konventioneller Resektion, bzw. Durchführung einer AIOPDT (mTHPC). Bei den konventionell resezierten Tieren traten die Rezidivtumoren mit zunehmender Sauerstoffgabe früher auf. Eine Oxygenierung während der sauerstoffverbrauchenden AIOPDT mit mTHPC (6 Liter Sauerstoffgabe), verlängerte dagegen das rezidivfreie Überleben der Tiere, bei gleichzeitig niedrigeren Tiersterblichkeiten. Die Punktmessungen der Tumoroxygenierung waren allerdings starken meßtechnischen Schwankungen unterworfen, sodaß nur ein Ausschnitt und nicht die Gesamtoxygenierung des Tumors erfasst werden konnte.

Die Ergebnisse der spektrometrischen Messungen korrelierten nicht mit dem RFÜ der Tiere: Eine hohe intratumorale Anreicherung des PS, führte nicht gleichzeitig zu verlängerten rezidivfreien Überlebenszeiten, sodaß aufgrund der Komplexität der photodynamischen Effekte, eine Prädiktion des therapeutischen Erfolges nicht allein aufgrund der spektrometrischen Quantifizierung des PS möglich ist.

Trotzdem sollte künftig die spektrometrische Evaluation der PS-Akkumulation in vivo während der Tumorsektion, bzw. bei der AIOPDT, zur Detektion residueller Tumorzellen durchgeführt werden. Die hohe Selektivität der intratumoralen PS-Anreicherung ermöglicht zusätzlich, nach Anregung mit einer geeigneten Lichtquelle (Kaltlicht) in der jeweiligen PS spezifischen Wellenlänge, eine primäre intraoperative Tumordetektion, sowie die Erfassung

des Tumorausmaßes und eventueller Metastasen. Diese Fluoreszenzdiagnostik kann intraoperativ mehrmals durchgeführt werden und ermöglicht so eine repetitive Kontrolle der Tumorresektion.

Durch die klinische Kombination dieser Fluoreszenzdiagnostik als intraoperative Resektionskontrolle und der AIOPDT als adjuvantes Therapieverfahren, könnte eine Optimierung in der Therapie kolorektaler Karzinome erreicht werden, verbunden mit einer erfolgsversprechenden Verlängerung der rezidivfreien Überlebenszeit der betroffenen Patienten.