

Adhäsions- und Nidationsprophylaxe nach i.p.-Implantation von SCOV3.ip-Zellen
in SCID-Mäuse mittels Icodextrin, Hyaluronsäure und physiologischer NaCl-Lösung
im Vergleich

Von der Medizinischen Fakultät
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen
zur Erlangung des akademischen Grades
einer Doktorin der Medizin
genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Inga Bekes

aus

Bochum

Berichter: Herr Privatdozent
Dr. med. Stefan Rimbach

Herr Universitätsprofessor
Dr. med. Dr. E. h. (GUS) Volker Schumpelick

Tag der mündlichen Prüfung: 28. Januar 2008

Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Hochschulbibliothek online verfügbar.

Meinen Eltern und meiner Schwester

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG UND ZIELSTELLUNG	1
2.	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1	Adhäsionen	3
2.1.1	Ätiologie und Pathogenese	3
2.1.2	Klinische Relevanz und Komplikationen	5
2.1.3	Behandlungsstrategien und Prävention	6
2.2	Ovarialkarzinom	10
2.2.1	Inzidenz	10
2.2.2	Ätiologie und Risikofaktoren	10
2.2.3	Klinik	11
2.2.4	Klassifikation und Stadieneinteilung	11
2.2.5	Metastasierungswege	14
2.2.6	Diagnostik und Früherkennung	14
2.2.7	Therapie	15
2.2.8	Prognose	16
2.3	Peritonealkarzinose	18
2.3.1	Epidemiologie	18
2.3.2	Pathophysiologie	18
2.3.3	Klinik	19
2.3.4	Therapie	19
2.3.5	Prognose	21
2.4	Desiderate	22
3.	MATERIAL UND METHODE	23
3.1	Materialien	23
3.1.1	Zellkultur	23
3.1.2	Medikamente	24
3.1.2.1	4%ige Icodextrinlösung (Adept®)	24
3.1.2.2	7,5%ige Icodextrinlösung (Extraneal®)	25
3.1.2.3	Hyaluronsäure (Hyalobarrier®-Gel)	25

3.1.2.4	Physiologische NaCl-Lösung	26
3.1.3	Sonstige Medikamente	26
3.1.4	Verbrauchsmaterialien	26
3.1.5	Geräte	27
3.2	Methode	28
3.2.1	Zellkultur	28
3.2.1.1	Auftauen der Zellen	28
3.2.1.2	Zellzucht	28
3.2.1.3	Passagieren der Zellen	29
3.2.1.4	Zellzählung und Portionierung	29
3.2.2	Tiermodell	30
3.2.3	Tierhaltung	30
3.2.4	Pilotstudie	31
3.2.5	Auswertung der Pilotstudie	32
3.2.6	Hauptstudie	34
3.2.6.1	Präoperative Vorbereitungen	34
3.2.6.2	Laparotomie	35
3.2.7	Auswertung der Hauptstudie	36
3.2.7.1	Adhäsionsscore	37
3.2.7.2	Lokalisation der Adhäsion	37
3.2.7.3	Tumorscore	38
3.2.7.4	Lokalisation des Tumors	39
3.2.7.5	Digitale Tumorflächenmessung	39
3.2.7.6	Tumorgewicht	39
3.2.7.7	Histologie	39
3.2.8	Fotodokumentation	40
3.2.9	Statistische Auswertung	40
4.	ERGEBNISSE	41
4.1	Pilotstudie	41
4.2	Hauptstudie	42
4.2.1	Adhäsionen	43
4.2.1.1	Adhäsionsscore	43

4.2.1.2	Lokalisation der Adhäsion	46
4.2.2	Tumor	49
4.2.2.1	Tumorscore	49
4.2.2.2	Lokalisation des Tumors	51
4.2.2.3	Tumorgewicht	55
4.2.2.4	Digitale Tumorflächenmessung	56
4.2.2.5	Histologie	58
5.	DISKUSSION	60
5.1	Tiermodell	60
5.2	Tumormodell	61
5.3	Adhäsionsmodell	62
5.4	Versuchsdurchführung	62
5.4.1	Pilotstudie	62
5.4.2	Hauptstudie	63
5.4.2.1	Adhäsionen	64
5.4.2.2	Tumor	65
5.5	Versuchsmaterialien	65
5.5.1	Icodextrin	66
5.5.2	Hyaluronsäure	67
5.5.3	Physiologische NaCl-Lösung	68
5.6	Analyse der Ergebnisse	69
5.6.1	Adhäsionsprophylaxe	69
5.6.2	Nidationsprophylaxe	71
6.	SCHLUSSFOLGERUNGEN UND PERSPEKTIVEN	73
7.	ZUSAMMENFASSUNG	76
8.	LITERATURVERZEICHNIS	78
9.	ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS	92

1. EINLEITUNG UND ZIELSTELLUNG

„Kaum ein Gebiet der abdominellen Chirurgie verursacht in diagnostischer und therapeutischer Hinsicht so viele Schwierigkeiten, wie das der peritonealen Verwachsungen.“ (Naegli, 1922)

Seit der Etablierung operativer Eingriffe stellt die Induktion von Adhäsionen ein zentrales klinisches Problem dar. Intraperitoneale Verwachsungen führen zu unspezifischen chronischen abdominellen Beschwerden, Infertilität und mechanischem Ileus (diZerega und Rodgers, 1992; Howard, 1993; Strickler et al., 1994; Tulandi et al., 1998). Innerhalb der Forschung wird diesem Thema deshalb seit langer Zeit große Aufmerksamkeit geschenkt. Die Erkenntnisse im Bereich des Pathomechanismus werden zunehmend differenzierter und die Entwicklung von Methoden zur Adhäsionsprophylaxe analog effektiver. Dabei steht das primäre Vermeiden von Verwachsungen nach wie vor im Mittelpunkt chirurgischer Bemühungen. Die Minimierung großer Wundflächen durch organschonendes Operieren, der Einsatz minimal invasiver Operationstechniken, das ausgiebige Spülen und das Verbannen von Talkum an den Handschuhen der Chirurgen sind weltweit anerkannte Maßnahmen zur Primärprophylaxe von Adhäsionen. Darüber hinaus wurde eine Vielzahl von medikamentösen Substanzen, ob fest oder flüssig, lokal oder systemisch, auf ihre adhäsionsreduzierende Wirksamkeit getestet (Risberg, 1997; Farquhar et al., 2000; Watson et al., 2000). Bis heute hat sich jedoch kein gesicherter Standard für die Sekundärprophylaxe von Adhäsionen etabliert. Eine unzureichende antiadhäsive Wirksamkeit der eingesetzten Substanzen und klinisch nicht akzeptable Nebenwirkungen sind dafür die Ursache. Darüber hinaus fehlen umfassende Studien zum evidenzbasierten Effektivitätsnachweis.

Die Forderung nach einer effizienten Adhäsionsprophylaxe ist heute aktueller denn je. Jüngste Untersuchungen betonen bisher völlig unterschätzte Konsequenzen der Adhäsionsbildung, vor allem die sozio-ökonomischen Folgekosten (Ray et al., 1993; Holmdahl und Risberg, 1997). So ist in den Industrieländern ein deutlicher Anstieg an adhäsionsbedingten Symptomen und Erkrankungen zu verzeichnen (Müller und Treutner, 2005). Die steigende Lebenserwartung der Bevölkerung mit gleichzeitig zunehmender Verfügbarkeit operativer Behandlungsstrategien auch in höheren Altersklassen steigert die Anzahl von adhäsionsbedingten Relaparotomien und

Komplikationen beträchtlich. Viele Konsequenzen können heute noch nicht eingeschätzt werden, weil die medizinischen Folgen erst nach Jahren oder jahrzehntelangen Intervallen auftreten. Die finanzielle Belastung des Gesundheitssystems ist ein eminent wichtiger Faktor, der für die Zukunft kalkuliert werden muss (Rimbach et al., 2004).

Seit jüngster Zeit gewinnen die bisherigen Erkenntnisse zur Adhäsionsproblematik zunehmend auch an Relevanz für die Onkologie. Viele Daten aus der Literatur weisen auf einen pathophysiologischen Zusammenhang zwischen der Formation peritonealer Adhäsionen und peritonealer Tumormetastasierung hin: Der Antwortmechanismus auf das peritoneale Trauma scheint einen ähnlichen Effekt auf perioperative Tumorausaat im Sinne der intraperitonealen Metastasierung zu haben wie auf die Ausbildung von postoperativen Adhäsionen (Lee et al., 1994; Jacobi et al., 1997; van den Tol et al., 1998). Diese Erkenntnisse könnten gerade für die gynäkologische Onkologie von Nutzen sein, was die Problematik der peritonealen Aussaat beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom oder anderen gynäkologischen Tumorentitäten mit Peritonealkarzinose angeht. Substanzen, die, perioperativ appliziert, die Adhäsion und Nidation von Tumorzellen beeinflussen könnten, wären für betroffene Patientinnen von großem Nutzen.

Vor diesem Horizont ist die vorliegende tierexperimentelle Studie zu sehen. Sie soll – ausgehend von gegenwärtigen wissenschaftlichen Erkenntnissen aus dem Bereich der operativen Therapie benigner gynäkologischer Erkrankungen - die Fähigkeit der Substanzen Icodextrin (Adept®) und Hyaluronsäure (Hyalobarrier®-Gel) im Vergleich zu physiologischer NaCl-Lösung (so genannter „künstlicher Aszites“) zur Adhäsions- und Nidationsprophylaxe bei der Operation von Ovarialkarzinomen testen. In Anbetracht des aktuellen Forschungsstandes stellen die Präparate Adept® und Hyalobarrier®-Gel bereits viel versprechende Barrieremittel zur Reduzierung postoperativer Adhäsionen dar (Verco et al., 2000; diZerega et al., 2002; De Iaco et al., 2003; Marchino et al., 2003). Ihre Wirksamkeit auf Tumornidation und -wachstum ist bisher jedoch - wenn überhaupt - nur unzureichend untersucht worden und längst nicht in allen Details und Implikationen verstanden. Hier ist also ein weiterer Forschungsbedarf angezeigt.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1 Adhäsionen

Die Problematik von postoperativen Adhäsionen ist seit vielen Jahren im klinischen Alltag bekannt und steht immer wieder neu im Fokus rezenter wissenschaftlicher Untersuchungen. Bereits Payr weist 1924 darauf hin, dass „das Problem der Bauchfellverwachsungen (...) angesichts der gewaltigen Zunahme des Adhäsionsmaterials gleichsinnig mit der Steigerung der Zahlen von Chirurgen und Gynäkologen ausgeführten Bauchschnitte immer mehr in den Vordergrund des Interesses rückt.“ (Payr, 1924)

2.1.1 Ätiologie und Pathogenese

Der Begriff der Verwachsung oder Adhäsion ist in der Medizin nur unscharf definiert. Spricht man von „chirurgischen“ Adhäsionen, so handelt es sich um fibröse Stränge zwischen den serösen Häuten der Körperhöhlen. Diese Häute können das Peritoneum, die Pleura oder das Perikard sein. Die folgenden Ausführungen beziehen sich sämtlich auf peritoneale Adhäsionsbildung.

Intraabdominelle Adhäsionen weisen eine komplexe und hoch differenzierte histologische Struktur auf. Sie enthalten im Wesentlichen eine große Anzahl von Bindegewebsproteinen, einschließlich Kollagen (Typ 3 und 4) und werden wie das Peritoneum von einer Schicht aus Mesothelzellen überzogen. Die Vaskularisation ist graduell sehr unterschiedlich. Morphologisch besitzen die Gefäße zwar eine Endothelauskleidung, ihnen fehlt jedoch die Intima.

Die auslösenden Faktoren für die Entstehung von postoperativen Adhäsionen sind mannigfaltig. Neben dem operativen Trauma werden die bakterielle Infektion, Fremdkörperkontamination, Austrocknung, Radiatio, allergische Reaktion, chemische Schädigung und Ischämie als Ursachen genannt (Müller und Treutner, 2005).

Durch Koagulation, Präparation oder Ischämie im Operationsfeld wird die Serosa beschädigt. Die oberflächliche Schicht Mesothelzellen des Peritoneums ist besonders verletzlich, da die einzelnen Zellen nur sehr lose miteinander verbunden sind. Bereits

leichte Berührungen mit einem Tupfer können zur Ablösung der Deckzellen und damit zur Denaturierung der Peritonealoberfläche führen.

Dieser Serosadefekt bildet die Grundlage für postoperative Adhäsionen. Die Abheilung der Peritonealläsion beginnt mit der Auslösung der Wundheilungskaskade: Die bei chirurgischem Trauma intraabdominell freigesetzten Makrophagen besiedeln den Ort des Peritonealdefektes und führen zur Ausschüttung von chemotaktischen Botenstoffen. Diese bewirken eine Einwanderung von Mesothelzellen, die sich auf dem Peritonealdefekt zu Inseln formieren. Die Inseln proliferieren auf der Wundfläche und bilden durch Zusammenwachsen eine neue peritoneale Oberfläche. Die Zeit bis zur Abheilung des Bauchfelldefektes ist relativ unabhängig von Art und Ausmaß des Traumas. Sie beträgt bis zur Deckung des Defektes mit Mesothelzellen zwischen fünf und acht Tagen (diZerega, 1996; Gomel et al., 1996). Diese relative Zeitkonstanz erklärt sich aus dem Vergleich zur Reepithelialisierung der Epidermis der Haut. Hier erfolgt die Bildung neuer Epithelschichten nicht über Inseln, sondern vom Außenrand des Defektes in Richtung Zentrum. Die erforderliche Zeitdauer ist von der Größe der Verletzung abhängig: Größere Hautwunden benötigen mehr Zeit als kleinere Defekte.

Die vollständige Abheilung eines Peritonealdefektes ist nach einer Woche jedoch noch längst nicht abgeschlossen. Die Bindegewebsreaktionen in der Tiefe dauern noch für Monate an. Die Oberfläche, welche zur Ausbildung von Adhäsionen fähig wäre, ist dagegen komplett mit neuer Peritonealschicht überzogen.

Nach heutigem Kenntnisstand liegen der Adhäsionsbildung neben den beschriebenen besonderen Eigenschaften der Peritonealzellen noch weitere Ursachen zugrunde: die Störung bzw. Dysbalance der Fibrinogenese / -lyse. Durch chirurgisches Trauma wird die intraperitoneale fibrinolytische Aktivität herabgesetzt, so dass die bei der physiologischen Wundheilung gebildete Fibrinschicht nicht abgebaut werden kann. Der gewebsständige tissue Plasminogen Aktivator (tPA) nimmt ab, während der Inhibitor (tPI) zunimmt (diZerega, 1997).

Die Fibrinschicht besiedelt jetzt nicht nur die Stelle der Peritonealläsion, sondern spannt sich auch zwischen den einander gegenüber liegenden Oberflächen, wie z.B. dem Ovar und dem Darm aus. Durch einwandernde und proliferierende Mesothelzellen sowie durch das Einsprossen von Fibroblasten bilden sich schließlich Verwachsungsstränge.

Die Frage nach Unterschieden in der Entstehung von Adhäsionen beim parietalen und viszeralem Peritoneum im Vergleich, beschäftigt die Forschung seit langem. Strukturelle Differenzen könnten die klinischen Erfahrungen bestätigen, dass beim viszeralem

Peritoneum der Tube oder dem Ovar deutlich häufiger Adhäsionen zu beobachten sind. Bedingt durch das natürliche Fehlen von peritonealem Überzug am Ovar ist die fibrinolytische Aktivität von Beginn an nicht vorhanden (Korell et al., 1995).

2.1.2 Klinische Relevanz und Komplikationen

Nach laparotomischen Eingriffen entwickeln bis zu 94% der Patienten primäre postoperative Adhäsionen (Menzies, 1992), wobei die Inzidenz von Verwachsungen mit der Anzahl der durchgeführten Laparotomien steigt (van den Tol et al., 1997).

Adhäsionen, ob durch peritoneales Trauma, Radiatio, Infektion oder genetisch bedingt, führen in erheblichem Maße zu klinischen Folgeerscheinungen. Zu den häufigsten Komplikationen zählen die Infertilität bei Frauen, chronische abdominelle Schmerzzustände und der mechanische Darmverschluss, das lebensbedrohliche Krankheitsbild des Adhäsionsileus (Howard, 1993; Strickler et al., 1994; Tulandi et al., 1998).

Die Krankenhausletalität von Darmobstruktionen liegt bei bis zu 9,8% (Menzies et al., 2001). Einer Langzeitstudie zufolge leiden 5% aller laparotomierten Patienten postoperativ an intestinalen Obstruktionen (Soybel, 1997). Nach Daten, die für Großbritannien ermittelt wurden, sind 1% aller chirurgischen Einweisungen und 3% aller abdominalen Eingriffe die Folge intestinaler Obstruktionen durch Adhäsionen (Menzies und Ellis, 1990). In Deutschland liegt die Zahl bei 2,6% (Treutner et al., 1995).

Waren früher noch inkarzerierte Hernien die Hauptursache des Ileus, so sind dafür in den westlichen Industrienationen heute die Adhäsionen zunehmend verantwortlich (Müller und Treutner, 2005). Die Steigerung der Lebenserwartung, die Verbesserung der medizinischen Versorgung und die Verfügbarkeit von gezielten operativen Maßnahmen auch für ältere Patienten tragen zu diesem Wandel im Wesentlichen bei. Hinzu kommt, dass viele Fälle von adhäsionsbedingten intestinalen Obstruktionen erst nach einer gewissen Zeitspanne präsent und klinisch relevant werden. So beträgt das Intervall zwischen Laparotomie und adhäsionsbedingter Passagestörung für 20 bis 39% zwischen 5 und 20 Jahren, für 10 bis 24 % der Patienten liegt es sogar noch höher (Räf, 1969; Asbun et al., 1989; Menzies und Ellis, 1990).

In der Gynäkologie stellt die weibliche Infertilität als zentrale Folge pelviner Adhäsionsbildungen ein wichtiges klinisches Problem dar. Die Inzidenz wird mit 15 bis 20% angegeben (Milingos et al., 2000). Bei einer Studie an 88 Sterilitätspatientinnen ließ sich in 39% der Fälle Adhäsionsbildung als einzige pathologische Ursache nachweisen (Rabkin, 1986). Auch operative Behandlungen von Endometriose-Patienten gehen mit fibrösen Adhäsionen einher. So wird von Infertilitätsfolgen in bis zu 20% der Fälle berichtet. Nach Adhäsioolyse kann die Schwangerschaftsrate um 38 bis 52% gesteigert werden (Al-Jaroudi und Tulandi, 2004). Epidemiologische Daten von Lower et al. (2000) zeigen, dass 4,4% aller gynäkologischen Operationen direkt adhäsionsbedingte Rehospitalisierungen zur Folge hatten und 46% aller Eingriffe möglicherweise verwachsungsbedingte Rehospitalisierungen.

Eine weitere klinische Folgeerscheinung von Adhäsionen stellt das Auftreten von chronischen abdominellen Schmerzen dar. Adhäsionen werden klinisch meist dann erst manifest, wenn der Patient diese beklagt. 13 bis 26% der chronischen Unterbauchschmerzen werden auf Adhäsionsbildung zurückgeführt (Rapkin und Mayer, 1993). Der pathophysiologische Kausalzusammenhang ist dabei noch weitgehend ungeklärt. Erkenntnisse über die Innervation der Adhäsionen durch sensorische Neurone könnten jedoch eine Erklärung dafür sein, dass Verwachsungen Schmerzstimuli generieren (Sulaiman et al., 2001). Jedenfalls gaben 4/5 aller Patienten mit Adhäsionen beim Berühren der Verwachsungen in mikrolaparoskopischen Untersuchungen unter Lokalanästhesie Schmerzen an (Almeida und Val-Gallas, 1997). Auch die eingeschränkte Darmmotilität könnte ursächlich eine wichtige Rolle in diesem Zusammenhang spielen (Rimbach et al., 2004). Die kausale Verknüpfung zwischen Adhäsionen und abdominellen Schmerzen ist wissenschaftlich aber keinesfalls eindeutig belegt. Die bislang vorliegenden Studien liefern hierzu unterschiedliche Erklärungen und Ergebnisse (Peters et al., 1992).

2.1.3 Behandlungsstrategien und Prävention

Detaillierte Erkenntnisse im Bereich des Pathomechanismus haben zu diversen Behandlungsansätzen auf unterschiedlichen Ebenen geführt. Diese reichen in ihrer Vielfalt von „exotischen“ Varianten wie der Applikation von Honig oder der

postoperativen mehrmaligen Umlagerung des Patienten bis hin zur Entwicklung und Verabreichung ursachenbezogener medikamentöser Substanzen.

Zu den Grundlagen der Primärprophylaxe zählen das sterile Arbeiten und atraumatische Operieren. Der Einsatz mikrochirurgischer Operationstechniken, die Vermeidung großer Wundflächen und das Praktizieren gewebeschonender Präparationstechniken tragen ebenso wie das intraoperative Spülen zum Entfernen von Fibrinbelägen sowie der Verzicht auf Puder in Operationshandschuhen zur Realisierung der Adhäsionsprophylaxe bei. Auch der reduzierte Einsatz von Tupfern, Tüchern und Nahtmaterial stellen wichtige Maßnahmen dar, um Fremdkörperreaktionen zu unterbinden. Die Minimierung von Hämostase, Druck, Ischämie, Austrocknung und Hitze sind in diesem Zusammenhang ebenso wichtige flankierende intraoperative Verfahrensweisen.

Die vielfältigen Ansätze zur Sekundärprophylaxe sind aufs Ganze gesehen inhomogen. Viele neue Produkte existieren, werden derzeit aber noch nicht routinemäßig im Klinikalltag eingesetzt.

Einer Umfrage aus dem Jahre 1994 zufolge setzten lediglich 6% der deutschen Kliniken eine Routineprophylaxe ein. Hierbei wurden vorwiegend Ringer- oder NaCl-Lösung verwendet. Bei der Behandlung des Adhäsionsileus führten immerhin schon 17 % der Krankenhäuser eine Rezidivprophylaxe durch. Dabei wurden in 33% der Fälle Taurolidin, in 23% Elektrolytlösungen, in 14% Dextran, in 13% Aprotinin und in 8% der Fälle Peristaltika verwendet (Treutner et al., 1995).

Die in den letzten Jahren neu entwickelten Adjuvantien greifen im Pathomechanismus an ganz unterschiedlichen Stellen an. Neben der Hemmung der Entzündungsreaktion durch Kortikosteroide und nicht-steroidale Antiphlogistika wurden Fibrinolytika, Antibiotika, Dextran und Heparin auf ihre Wirksamkeit zur Adhäsionsprävention getestet. All diese Produkte zeigten jedoch erhebliche Nebenwirkungen (Hämorrhagien, Ulzera, Immunsuppression), ohne nachweislich effektiv Verwachsungen reduzieren zu können (Seifer et al., 1990; Christen und Buchmann, 1991; Pados und Devroey, 1992; diZerega, 1996).

Einen entscheidenden Fortschritt stellt die Entwicklung von physikalischen Barrieremethoden dar (Alponat et al., 1997; Risberg, 1997; Al-Jaroudi and Tulandi, 2004). Ihr Effekt liegt in der Distanzierung sich berührender peritonealer Oberflächen während der Wundheilungsphase. Es existieren sowohl lokal wie auch systemisch

wirksame Substanzen. Zu den lokal wirksamen Produkten im Handel zählen unter anderem Interceed[®], Spray Gel[®] und Hyalobarrier[®]-Gel. Interceed[®], ein Gewebe aus oxidiertes, regeneriertes Zellulose wurde insbesondere in der Gynäkologie angewandt. Bei Kontakt mit Flüssigkeit quillt die Membran auf und bildet ein hochvisköses Gel. Durch Blut wird der Effekt aber deutlich reduziert (Wallwiener et al., 1998; Azziz et al., 1991). Auch das laparoskopische „Handling“ gestaltet sich als schwierig (Wiseman et al., 2001). Spray Gel[®], ein visköses Produkt aus zwei Komponenten, dessen wirksamer Bestandteil ein Polyethylenglykol-Polymer ist, wird mithilfe einer Pumpe appliziert. Eine prospektive, kontrollierte Studie an Patienten mit offener und laparoskopischer Myomenukleation erbrachte eine deutlich höhere Rate an postoperativer Adhäsionsfreiheit bei den behandelten Probanden im Vergleich zur Kontrollgruppe (Mettler, 2003; Mettler et al., 2004). Publierte Daten zum Hyalobarrier[®]-Gel liegen derzeit noch in unzureichender Form vor. Das hochmolekulare Polymer bildet unter physiologischen Bedingungen einen viskosen Film und separiert in den ersten postoperativen Tagen die peritonealen Oberflächen (Marchino et al., 2003). Die bisherigen klinischen Erfahrungen scheinen jedoch im Hinblick auf adhäsionsreduzierende Aspekte viel versprechend (De Iaco et al., 2003; Marchino et al., 2003; Guida et al., 2004). Der Bedarf an weiter führenden Studie ist groß. Die hier dokumentierte Untersuchung an Mäusen soll zu weiteren Erkenntnissen in Bezug auf die Wirksamkeit des Hyalobarrier[®]-Gels beitragen.

Nachteil all dieser Barriereprodukte ist jedoch die rein lokale Entfaltung ihrer Wirkung. Von Vorteil sind dagegen systemische Produkte, welche ihren Effekt über den Applikationsort hinaus ubiquitär in der Peritonealhöhle ausbilden. Pathogenetische Erkenntnisse haben gezeigt, dass Adhäsionen nicht nur am Ort des direkten Traumas, sondern auch infolge von Fremdkörperkontamination, Druck, Ischämie, Hitze und Austrocknung andernorts entstehen (Müller und Treutner, 2005). Unter diesem Gesichtspunkt sind systemisch wirksame Substanzen entwickelt worden. Die bereits erwähnten Kortikosteroide (Dexamethason) und nicht-steroidale Antirheumatika haben sich allerdings im klinischen Bereich nicht durchsetzen können. Heute wird im klinischen Alltag am häufigsten die Methode der Erzeugung eines künstlichen Aszites praktiziert. Kochsalz-, Ringer- oder Ringerlaktatlösungen kommen hier zum Einsatz. Ihre Anschaffung ist kostengünstig und ihr Einsatz praktisch nebenwirkungsfrei. Ihre adhäsionsprophylaktische Wirksamkeit ist jedoch ungeklärt (Wiseman et al., 1999).

Seit einiger Zeit ist eine systemisch wirksame Flüssigkeitsbarriere als 4%ige Icodextrinlösung (Handelsname Adept®) verfügbar. Icodextrin, ein Glukosepolymer aus Maisstärke, wird in 7,5%iger Form (Handelsname Extraneal®) seit vielen Jahren erfolgreich in der Peritonealdialyse zur Behandlung der chronischen Niereninsuffizienz eingesetzt (Sprosen et al., 2002). Der adhäsionspräventive Charakter des Icodextrins liegt in der Erzeugung einer Hydroflotation. Durch Bildung einer flüssigen Barriere zwischen den peritonealen Oberflächen separiert es diese während der kritischen postoperativen Periode (Fibrinbildungsphase, Regeneration des Mesothels) (Holmdahl, 1999). Das erhöhte Flüssigkeitsvolumen im Peritonealspalt führt zu einer besseren Trennung der Peritonealflächen und ermöglicht eine Hydroflotation der Organe, was der Adhäsionsbildung in der gesamten Bauchhöhle entgegenwirkt. Die Distanzierung der Oberflächen reduziert die Wahrscheinlichkeit des Verklebens. Adept® wird intraperitoneal appliziert und verbleibt durch sein hohes Molekulargewicht für mehr als vier Tage in der Peritonealhöhle. Im Gegensatz zu anderen Adhäsionsprophylaktika wird Icodextrin als polymeres Molekül nur langsam über das Lymphsystem resorbiert (diZerega et al., 2002). Nach vier Tagen kann noch etwa die Hälfte des instillierten Flüssigkeitsvolumens intraperitoneal nachgewiesen werden (Hosie et al., 2001). Im Blut erfolgt dann eine rasche Metabolisierung zu Oligosacchariden und schließlich zu Glukose (Davies, 1994; Harris et al., 1995). Entscheidendes Enzym dort ist die α -Amylase, welche in der menschlichen Peritonealhöhle nicht vorkommt und somit keinen frühzeitigen Abbau intraperitoneal einleiten kann. Klinische Studien haben gezeigt, dass Adept® die Inzidenz, das Ausmaß und die Schwere von Adhäsionen nach chirurgischen Eingriffen im Abdominalbereich signifikant senkt (diZerega et al., 2002; Verco et al., 2000). Diese Daten lassen auf eine sich möglichst bald etablierende einfache Methode zur Adhäsionsprophylaxe hoffen. Weiterführende verifizierende Studien stehen aber auch zu diesem Präparat noch aus. Die vorliegende Arbeit stellt hierzu einen weiteren Forschungsbeitrag dar.

Dass die antiadhäsiven Barriereprodukte zukünftig auch in der gynäkologischen Onkologie von großem Nutzen sein könnten, unterstreichen wissenschaftliche Erkenntnisse, die eine Parallelität zwischen der Adhäsionsbildung und der Tumorzelladhäsion im Rahmen von peritonealen Metastasierungsprozessen beschreiben (Lee et al., 1994; Jacobi et al., 1997; van den Tol et al., 1998). So könnten Antiadhäsiva als nidationsprophylaktische Mittel fungieren und eine Tumoraussaat unterbinden. Patientinnen mit einer sekundären Peritonealkarzinose als Folge eines Ovarialkarzinoms

würden davon in besonderem Maße profitieren. Das gynäkologische Krankheitsbild gilt bis heute, wie die nachfolgenden Ausführungen belegen, aufgrund mangelnder Früherkennung und unzureichender Therapieoptionen als prognostisch ungünstig.

2.2 Ovarialkarzinom

2.2.1 Inzidenz

Das Ovarialkarzinom stellt das dritthäufigste gynäkologische Malignom dar. Hinter dem Endometriumkarzinom folgt es als zweithäufigster Genitaltumor der Frau (AGbKR und RKI, 2002). Da es, verglichen mit anderen gynäkologischen Tumorerkrankungen, die höchste Mortalitätsrate besitzt (Pfisterer und du Bois, 2002), kommt ihm in der klinischen Forschung eine besondere Bedeutung zu.

Nach Angaben der WHO erkranken weltweit jährlich ca. 200.000 Frauen am Ovarialkarzinom (Ferlay et al., 2001). In Deutschland liegt das Ovarialkarzinom an siebter Stelle der Inzidenzenrangliste (nach Mammakarzinom, Kolonkarzinom, Leukämie, Lymphom, Korpuserkarzinom des Uterus, Magenkarzinom und Bronchialkarzinom). Die Wahrscheinlichkeit, an einem Ovarialkarzinom zu erkranken, steigt mit zunehmendem Alter. Am häufigsten wird das Malignom zwischen dem 50. und 59. Lebensjahr diagnostiziert (Scharf et al., 2002). Etwa die Hälfte aller Ovarialkarzinome tritt beidseits auf.

2.2.2 Ätiologie und Risikofaktoren

Die Ätiologie des Ovarialkarzinoms ist noch nicht vollständig geklärt. Dennoch gibt es wissenschaftliche Erkenntnisse darüber, dass bestimmte Faktoren das Risiko für das Auftreten dieser Erkrankung begünstigen. Zu diesen Risikofaktoren zählen neben der Nulliparität, die frühe Menarche sowie späte Menopause, die Einnahme von ovulationsfördernden Mitteln, die Infertilität und das mehrfache Auftreten von Fehlgeburten. Vermutlich spielen auch Umweltfaktoren und der Lebensstil eine Rolle, weil die Inzidenz in den Industrieländern nachweislich höher liegt als in den

Entwicklungsländern. Mehrfache Schwangerschaften, das Stillen oder die Einnahme hormoneller Kontrazeptiva senken demgegenüber das Risiko für das Auftreten eines Ovarialkarzinoms. Auch eine Tubenligatur oder eine Hysterektomie (Irwin et al., 1991) scheinen einen protektiven Effekt zu haben.

Das familiär gehäufte Auftreten von Ovarialkarzinomen weist außerdem auf genetisch bedingte Ursachen hin. Ca. 5 bis 10% der Fälle sind auf Vererbung zurückzuführen (Holschneider und Berek, 2000; Engel und Schubert-Fritschle, 2001). Die familiäre Häufung wird auch unter dem Begriff des Ovarialkarzinom-Syndroms beschrieben. So existieren Ovarialkarzinome, die mit dem Auftreten eines Mammakarzinoms assoziiert sind (BRCA 1/2-Gen-Trägerinnen; Brust-Ovarialkarzinom-Syndrom). Auch ein vermehrtes Auftreten von Ovarialkarzinomen mit kolorektalem Karzinomen und Endometriumkarzinom konnte wissenschaftlich gezeigt werden (Lynch-Typ-II-Syndrom) (NIH, 1994; Pfisterer und du Bois, 2002).

2.2.3 Klinik

Beim Ovarialkarzinom gibt es keine typischen somatischen Frühzeichen. Die ersten Hinweise sind meist uncharakteristisch (intraabdominelle Schmerzen, postmenopausale Blutungen). Die Symptome treten, wenn überhaupt, erst sehr spät auf. Bei 70% der Patientinnen erfolgt die Diagnose in fortgeschrittenen Stadien (FIGO III und IV) (Kreienberg, 1998; Chi et al., 2001; Schmidt-Matthiesen et al., 2002) Lediglich 30% der Erkrankten werden in frühen Stadien diagnostiziert. Ein häufiges Spätzeichen ist die Zunahme des Bauchumfangs durch Aszitesbildung infolge einer Peritonealkarzinose (Pfisterer und du Bois, 2002).

2.2.4 Klassifikation und Stadieneinteilung

Die *Stadieneinteilung* des Ovarialkarzinoms erfolgt nach der TNM- und FIGO-Klassifikation (Mayr und Diebold, 2000). Die Einteilung ist entscheidend abhängig vom intraoperativen makroskopischen Befund sowie seiner histologischen Bestätigung. Deshalb ist für die korrekte Einteilung relevant, auch Biopsien aus Bereichen des Peritoneums zu entnehmen, die makroskopisch scheinbar tumorfrei aussehen.

TNM		FIGO	
TX			Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0			Kein Anhalt für Primärtumor
T1		I	Tumor begrenzt auf Ovarien
	T1a		IA Tumor auf ein Ovar begrenzt; Kapsel intakt, kein Tumor auf der Oberfläche des Ovars; keine malignen Zellen in Aszites oder Peritonealspülung
	T1b		IB Tumor auf beide Ovarien begrenzt; Kapsel intakt, kein Tumor auf der Oberfläche beider Ovarien, keine malignen Zellen in Aszites oder Peritonealspülung
	T1c		IC Tumor begrenzt auf ein oder beide Ovarien mit Kapselruptur; Tumor an Ovaroberfläche oder maligne Zellen in Aszites oder Peritonealspülung
T2		II	Tumor befällt ein Ovar oder beide Ovarien und breitet sich im Becken aus
	T2a		IIA Ausbreitung auf und/ oder Implantate an Uterus und/ oder Tube(n); keine malignen Zellen in Aszites oder Peritonealspülung
	T2b		IIB Ausbreitung auf andere Beckengewebe; keine malignen Zellen in Aszites oder Peritonealspülung
	T2c		IIC Ausbreitung im Becken (2a oder 2b) und maligne Zellen in Aszites oder Peritonealspülung
T3 und/ oder N1		III	Tumor befällt ein oder beide Ovarien mit mikroskopisch nachgewiesenen Peritonealmetastasen außerhalb des Beckens und/ oder regionäre Lymphknotenmetastasen
	T3a		IIIA Mikroskopische Peritonealmetastasen jenseits des Beckens
	T3b		IIIB Makroskopische Peritonealmetastasen jenseits des Beckens, größte Ausdehnung 2cm oder weniger
	T3c und/ oder N1		IIIC Peritonealmetastasen jenseits des Beckens, größte Ausdehnung mehr als 2cm, und/ oder regionäre Lymphknotenmetastasen
M1		IV	Fernmetastasen (ausschließlich Peritonealmetastasen)
N- Regionäre Lymphknoten			
NX		Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden	
N0		Keine regionären Lymphknotenmetastasen	
N1		Regionäre Lymphknotenmetastasen	
M- Fernmetastasen			
MX		Fernmetastasen können nicht beurteilt werden	
M0		Keine Fernmetastasen	
M1		Fernmetastasen (ausschließlich Peritonealmetastasen)	

Tabelle 1: Stadieneinteilung des Ovarialkarzinoms nach Mayr und Diebold (2000)

90% der Ovarialkarzinome gehen von den ovariellen Deckzellen (Kapselepitel, Serosa) (Scully et al., 1998) aus und bilden die Gruppe der epithelialen Tumoren. Nach der WHO-Klassifikation unterscheidet man unter diesen folgende *histologische* Typen (Scully und Sobin, 1999):

- A. Seröse Karzinome
- B. Muzinöse Karzinome
- C. Endometrioid Karzinome
- D. Klarzellige Karzinome
- E. Transitionalzellige Karzinome, Brenner Tumore
- F. Plattenepithelkarzinome
- G. Epitheliale Mischtumore
- H. Undifferenzierte Karzinome

Die Hauptgruppe der epithelialen Tumoren wird durch die serösen Karzinome (40 bis 69%) repräsentiert; diese metastasieren frühzeitig extra-ovariell und zeichnen sich durch eine schlechtere Prognose als muzinöse oder endometrioid Karzinome aus (Horn et al., 1995). Muzinöse Ovarialkarzinome werden in mehr als 60% bereits im FIGO-Stadium I und II diagnostiziert, in 37% sogar im Stadium Ia (Pfleiderer, 1991). Eine besonders auffällige Gruppe stellen die klarzelligen Karzinome dar, die große, unregelmäßige Zellkerne in einem hellen Zytoplasma aufweisen. Ihre Prognose ist durchweg ungünstig, da sie meist niedrig differenziert sind (Horn et al., 1995).

Die 10% der nicht-epithelialen Tumoren gliedern sich in Stroma- und Keimzell-Tumoren auf. Stroma-Tumoren können typischerweise Steroidhormone bilden, Keimzell-Tumoren treten bevorzugt bei jungen Frauen auf.

Histopathologisch erfolgt die Einstufung des Ovarialkarzinoms nach dem Gradingssystem für gynäkologische Tumoren (Wittekind et al., 2002):

GX: Differenzierungsgrad des Tumors kann nicht bestimmt werden

GB: Tumoren von Borderline-Malignität

G1: Tumor gut differenziert

G2: Tumor mäßig differenziert

G3: Tumor schlecht differenziert oder undifferenziert

2.2.5 Metastasierungswege

Maligne Ovarialtumoren bevorzugen den direkten und lymphogenen Metastasierungsweg. Per continuitatem breiten sie sich diffus intraperitoneal auf die Nachbarorgane und in die Peritonealhöhle aus; die lymphogene Metastasierung erfolgt in pelvine und paraaortale Lymphknoten. Hämatogene Fernmetastasen kommen eher selten vor. Aufgrund der bevorzugten Entstehung der Ovarialkarzinome von den Deckzellen des Oberflächenepithels ist eine intraperitoneale Ausbreitung mit Aszitesbildung und sekundärer Tumoraussaat schon bei Tumorentstehung möglich. In 65 bis 70% der Fälle kommt es zur Ausbildung einer Peritonealkarzinose (Müller H, 2006). Organmetastasen finden sich vorwiegend in der Leber und Lunge. Auch das kontralaterale Ovar wird sehr häufig - wahrscheinlich via lymphogener Metastasierung – befallen.

2.2.6 Diagnostik und Früherkennung

Screeningmethoden zur Früherkennung des Ovarialkarzinoms sind durch ihre geringe Sensitivität und Spezifität limitiert (Schwartz et al., 1995). Gerade für die frühen Tumorstadien, in denen noch günstige Prognosen bestehen, existieren derzeit keine effektiven Screeningprogramme. Zum Einsatz kommen (allein oder in Kombination) neben der manuellen vaginalen Untersuchung die Transvaginalsonografie, die Farbdopplersonografie und die Bestimmung von Tumormarkern. Wichtigster Tumormarker für das epitheliale Ovarialkarzinom ist das CA12-5, ein hochmolekulares Glykoprotein. Bei mehr als 80% der Patientinnen mit fortgeschrittenem Tumorstadium ist dieser Wert erhöht. Im Stadium FIGO I findet man jedoch nur in 50% der Fälle einen erhöhten CA12-5-Wert, weshalb die Bestimmung dieses Tumormarkers für die Früherkennung und Diagnostik nicht gesichert ist und wenig Bedeutung hat. Auch falsch positive Werte durch benigne Adnextumoren oder Endometriose schränken die Spezifität des Markers ein. Für den Einsatz als allgemeine Screeningmethode ist er deshalb eher ungeeignet. Die CA12-5-Bestimmung dient vor allem der Kontrolle des Krankheits- und Therapieverlaufs.

Bildgebende Verfahren wie Magnetresonanztomographie (MRT) oder Computertomographie (CT) werden im Falle des Verdachts auf ein Ovarialkarzinom

zur Klärung der Ausdehnung, der Beteiligung anderer Organe (Metastasen, Aszites) und zur Festlegung der operativen Therapieplanung eingesetzt.

Den entscheidenden diagnostischen Schritt zur definitiven Klärung des Befundes bildet die Laparotomie.

2.2.7 Therapie

Die Therapie des Ovarialkarzinoms besteht heute im Wesentlichen aus zwei Komponenten: der Operation - mit dem Ziel der Verminderung der Tumorlast - und der postoperativen Chemotherapie.

Die Operation stellt einen diagnostischen und therapeutischen Eingriff zugleich dar. Während die Diagnostik den Malignitätsverdacht verifiziert bzw. falsifiziert und den Tumor in der Art und Ausbreitung beurteilt, hat die therapeutische Intervention das Ziel, den Tumor möglichst in toto zu entfernen. Die Grundvoraussetzung für eine effektive Gesamttherapie stellt die optimale Tumorreduktion mit dem Ziel der makroskopischen Tumorfreiheit dar (Kuhn et al., 2001; Lichtenegger et al., 2001; Bristow et al., 2002). Das operative Procedere sieht im Stadium I und II neben der bilateralen Adnektomie die Hysterektomie, Omentektomie, pelvine und paraaortale Lymphonodektomie sowie Appendektomie vor (Jänicke, 1999). In fortgeschrittenen Tumorstadien werden die Entfernung oder Teilresektion von Blase, Milz, Darmanteilen oder des kleinen Netzes angestrebt. Außerdem erfolgt die Resektion befallener Peritonealanteile. Wegen der hohen Komplikationsraten sollte der Nutzen eines solchen radikalen Eingriffes stets unter Berücksichtigung des Alters und des Allgemeinzustandes der Patientin abgewogen werden. In fortgeschrittenen Stadien ist die Operation nur im interdisziplinären Ansatz adäquat durchführbar.

Die postoperative Chemotherapie erfolgt mit platinhaltigen Zytostatika wie Cisplatin oder Carboplatin. Diese Substanzen zeigen eine Ansprechrate von 70 bis 80%. Die Kombination mit einem Alkylanz steigert die Überlebensrate. Verschiedene Studien konnten zeigen, dass die platinhaltige Kombinationstherapie Cisplatin/Paclitaxel für die Patientinnen hinsichtlich des Überlebens vorteilhafter ist als Cisplatin/Cyclophosphamid (McGuire et al., 1996; McGuire et al., 1997; Covens et al., 2002). Die Ansprechrate bezüglich klinischer Komplettremission lag für Cisplatin/Plaxitaxel im

Bereich von 51 bis 54% und für Cisplatin/Cyclophosphamid von 31 bis 33% für ein Kollektiv im fortgeschrittenen Stadium (Dittrich, 1996).

Einen weiteren Ansatz bietet das Konzept der intraperitonealen Chemotherapie, bei der das tumoröse Areal mit höheren Medikamentenkonzentrationen beimpft werden kann. Die Effektivität und Toxizität dieser Methode sind mehrfach untersucht worden. Die Resultate sind allerdings inhomogen. Als nachteilig erweisen sich vor allem die möglichen gewebsschädigenden Effekte mit Nekrosenbildung und Perforation am Ort der Applikation, begünstigt durch eine Störung der Verteilung des Präparats durch Adhäsionen nach Radikaloperation.

Trotz radikal chirurgischer Primärtherapie und anschließender Kombinationschemotherapie erleiden 40 bis 60% der Patientinnen ein Rezidiv (Wagner et al., 2001; Ozols, 2002). Dieses stellt sich am häufigsten in systemischer Form als Peritonealkarzinose mit Aszitesbildung dar (Pfisterer und du Bois, 2002). Solitäre Metastasen im kleinen Becken oder an den regionalen Lymphknoten sind eher selten.

Die Frage nach einer Rezidivoperation ist primär abhängig vom Zeitintervall zwischen Ersteingriff und Rezidiv. Bei Spätrezidiven (rezidivfreies Intervall > 12 Monate) kann eine Operation sinnvoll sein, wenn bei Primärtherapie günstige Verhältnisse wie frühes Tumorstadium oder makroskopische Tumorfreiheit vorlagen. Hier sollte eine Indikation zum Eingriff aber nur dann erfolgen, wenn postoperativ von einer Tumorfreiheit ausgegangen werden kann. Bei Patientinnen mit Frührezidiven (rezidivfreies Intervall < 12 Monate) stellt eine weitere operative Intervention kein Langzeitbenefit für die Patientinnen dar. Die Überlebenszeit wird durch den chirurgischen Eingriff nicht signifikant verlängert (Jänicke et al., 1992; Kuhn et al., 1998; Parazzini et al., 2001; Tay et al., 2002). Bei stenosierenden Sekundäreffekten durch Tumorausbreitung können palliative Operationen jedoch für die Lebensqualität der Patientinnen und ihre klinische Symptomatik sinnvoll erscheinen.

2.2.8 Prognose

Klinische Indikatoren wie Stadium der Erkrankung bei Erstdiagnose, Histologie des Tumors und verbliebener postoperativer Tumorrest bestimmen die Prognose von Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom. Als stärkster unabhängiger Faktor gilt dabei

der postoperative Tumorrest (Chi et al., 2001; Lichtenegger et al., 2001). In einer Metaanalyse aus 53 Studien mit 6885 Patientinnen konnten Bristow et al. (2002) zeigen, dass eine direkte Proportionalität zwischen den Überlebensraten eines Ovarialkarzinoms und der maximalen Tumorreduktion besteht. Patientinnen, die völlig tumorfrei operiert werden können, leben signifikant länger (Braly und Klevecz, 1993; Braun et al., 2001) und haben eine bessere Prognose (Kuhn et al., 1999; Brun et al., 2000; Tingulstad et al., 2003) als Patientinnen mit postoperativ verbliebenen Tumormassen. Schon ein um 10% verminderter Tumorrest im Patientenkollektiv bedeutet eine Verlängerung der Überlebenszeit von etwa 5,5%. Auch das Tumorstadium bei Erstdiagnose hat, wie gezeigt werden konnte, einen entscheidenden Einfluss auf die Überlebensrate (Brinkhuis et al., 1996). Während Patientinnen im Stadium FIGO I noch eine 5-Jahres-Überlebensrate von 80 bis 90% haben, liegt sie im Stadium FIGO III nur noch bei 25 bis 40%, im Stadium FIGO IV sinkt sie auf 11%.

Als weitere Prognosefaktoren und Verlaufsparemeter gelten tumorbiologische Eigenschaften wie die Proliferations-, Invasions- und Metastasierungstendenz. Auch das Alter und der Allgemeinzustand der Patientinnen sind zu berücksichtigen. Ein reduzierter Allgemeinzustand, ein Erkrankungsalter größer 60 Jahre, eine große präoperative Aszitesmenge und bereits befallene retroperitoneale Lymphknoten korrelieren mit einer geringeren Überlebenswahrscheinlichkeit (Berek, 1994; Brun et al., 2000; Tingulstad et al., 2003).

Insgesamt lässt sich feststellen, dass das Ovarialkarzinom immer noch eine überwiegend ungünstige Prognose aufweist. Da klinische Vor- und Frühformen der Erkrankung selten gesehen werden, wird die Diagnose meist erst zu spät gestellt. Dies spiegelt sich noch heute statistisch in der höchsten Mortalitätsrate der Patientinnen bei gynäkologischen Malignomen wider (Bai et al., 2006).

Die Forderung nach wirkungsvolleren Therapievarianten steht deshalb nach wie vor im Brennpunkt wissenschaftlicher Untersuchungen. Antiadhäsiva könnten einen partiellen Lösungsansatz darstellen, wenn sie sich in Studien zur Tumornidationsprophylaxe als effektiv erweisen. Dass das fortgeschrittene Krankheitsstadium des Ovarialkarzinoms mit Peritonealkarzinose von diesem Therapieansatz in besonderem Maße profitieren könnte, belegen die folgenden Ausführungen.

2.3 Peritonealkarzinose

2.3.1 Epidemiologie

Als Peritonealkarzinose bezeichnet man die Ansiedlung und Ausbreitung von Tumorzellen in der Bauchhöhle. Ursprung dieser Zellen sind in erster Linie primäre Karzinome des Gastrointestinaltraktes (Kolon-, Magenkarzinom), des Ovars und Pankreas. Bereits im Stadium eins und zwei eines Ovarialkarzinoms ist mit der Ausbildung einer sekundären Peritonealkarzinose zu rechnen (Tateishi et al., 1995). Auch extraabdominell lokalisierte Tumore wie Mammakarzinome oder Melanome können in seltenen Fällen durch Fernmetastasierung eine Peritonealkarzinose hervorrufen.

Epidemiologische Daten über die Häufigkeit des Auftretens peritonealer Metastasierung sind ausgesprochen spärlich. Zusammen mit den eher seltenen Tumorarten wie dem muzinösen Appendixkarzinom oder dem Mesotheliom des Bauchfells ergeben sich etwa 20.000 Neuerkrankungen pro Jahr. Davon haben etwa 6000 Patientinnen ein primäres Ovarialkarzinom (Müller H, 2006).

2.3.2 Pathophysiologie

Die Pathogenese lokoregionärer Rezidive und Bauchwandmetastasen ist bis heute noch längst nicht in allen Details erforscht. Bisherige Erkenntnisse machen jedoch deutlich, dass die intraperitoneale Metastasierung von Tumorzellen sehr komplex ist und in einer Kaskade verläuft. Diese vollzieht sich vereinfacht in folgenden Schritten:

1. Mobilisation
2. Migration
3. Nidation
4. Invasion

Zunächst lösen sich die Tumorzellen aus dem ursprünglichen Gewebeverband durch Verlust der Zell-Zell-Adhäsion und werden als „freie“ Tumorzellen in der Peritonealflüssigkeit nachweisbar. Diese freien, vitalen Tumorzellen besitzen die Potenz

zu adhären, zu wachsen, zu emigrieren und schließlich zu metastasieren (Gutt et al., 1999).

Durch komplexe Interaktionen zwischen Aktin- und Myosinfilamenten, dem Zytoskelett der Zelle, erlangt die Tumorzelle in der Peritonealhöhle ihre Fähigkeit zur Migration.

Den entscheidenden Initialpunkt zur Metastasierung bildet die Adhäsion der Tumorzelle an das Peritoneum. Diese Anheftung erfolgt vorwiegend an den Mesothelzelldefekten.

Die exprimierten Extrazellulärkomponenten des geschädigten Peritoneums (Kollagen, Fibronectin, Laminin, Vibronectin, CD-44-Moleküle) interagieren mit den perizellulären Matrixbestandteilen (Hyaluronsäure) der Tumorzellen. Lessan und Mitarbeiter (1999) konnten nachweisen, dass die CD-44-Hyaluronsäure-Interaktionen bei Ovarialkarzinomzellen deren metastatisches Potential steigern. Die eigen produzierten Zytokine, Proteasen und Interleukine der Tumorzellen regen die peritonealen Fibroblasten zur Proliferation an. Zusätzlich tragen Wachstumsfaktoren zur Beschleunigung dieses Prozesses bei. So werden die Tumorzellen im Rahmen des Fibrosierungsprozesses in den Mesotheldefekt eingebaut und verursachen durch Proliferation eine Peritonealkarzinose.

2.3.3 Klinik

Die Beschwerden, die von einer Peritonealkarzinose im frühen Stadium ausgelöst werden, sind uncharakteristisch und wenig richtungweisend für die Diagnostik. Intestinale Obstruktionen, maligner Aszites und intestinale Fistelbildung sind Zeichen einer fortgeschrittenen Erkrankung und deshalb mit hohen Mortalitätsraten verbunden (Sugarbaker et al., 1996).

2.3.4 Therapie

Die aktuellen therapeutischen Optionen zur Behandlung der Peritonealkarzinose umfassen folgende Realisierungsvarianten:

1. Chirurgische Resektion
2. systemische Chemotherapie

3. intraperitoneale Chemotherapie
4. intraperitoneale Immuntherapie

1. Chirurgische Interventionen beabsichtigen möglichst viel Tumorgewebe zu entfernen: bei der „no-touch“-Technik wird der Primärtumor während der Operation bedeckt und möglichst in toto reseziert. Somit kann eine Aussaat von Tumorzellen weitgehend unterbunden werden. Für verschiedene Tumortypen konnte belegt werden, dass eine möglichst vollständige Resektion des vorhandenen malignen Gewebes der wichtigste prognostische Faktor ist (Pingpank, 2005).

Die Durchführung einer Peritonektomie, der vollständigen Entfernung des Peritoneums, stellt ebenfalls eine chirurgische Maßnahme dar (Sugarbaker, 1995). Kurative Effekte bleiben für den Patienten jedoch in der Regel aus; aufgrund hoher Mortalitätsraten erscheint dieser radikale Ansatz eher ungünstig. Eine Kombination aus Peritonektomie und intraperitonealer Chemotherapie erscheint eher sinnvoll. Die Effizienz dieses sehr aufwändigen, aggressiven Verfahrens wurde bisher vor allem in kleineren Studien überprüft, wobei sich teilweise sehr gute Ergebnisse hinsichtlich des Überlebens zeigten. Dennoch kann diese Methode keinesfalls als etabliert angesehen werden, weil große kontrollierte Studien fehlen.

Bei Patienten mit maligner Erkrankung im fortgeschrittenen Stadium sind chirurgische Resektionen aufgrund des schlechten Allgemeinzustands häufig nicht mehr durchführbar. Deshalb sollte der Benefit einer solchen Intervention immer wieder kritisch geprüft werden.

2. Die systemische Chemotherapie stellt beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom im Stadium IIb bis IV mit Peritonealkarzinose ein alternatives Verfahren zur chirurgischen Behandlung dar. Standard ist die kombinierte Anwendung von Paclitaxel und Carboplatin. Beide Substanzen zeichnen sich durch ein gutes Wirkungsprofil aus. Die Nebenwirkungen für die Patientinnen sind relativ gering. Optimierungsversuche - im Sinne einer Effektivitätssteigerung durch die Addition weiterer zytotoxischer Substanzen - haben sich bisher als erfolglos herauskristallisiert (Pfisterer et al., 2006).

3. Ein weiteres Verfahren bildet die intraperitoneale Chemotherapie. Durch prä-, intra- oder postoperativen Einsatz kann bei dieser Methode sowohl prophylaktisch als auch therapeutisch interveniert werden. Chemotherapeutische Substanzen werden mit Hilfe

von Drainageschläuchen oder Trokaren direkt in die Peritonealhöhle appliziert. In diesem Fall wird eine hohe lokale Zytostatikakonzentration bei niedriger systemischer Toxizität angestrebt. Grenzen ergeben sich jedoch durch die hohen Resorptionsraten der Zytostatika. Auch die geringe Eindringtiefe der Wirkstoffe schränkt den Erfolg dieser Therapieoption ein, da eine vollständige Zerstörung der malignen Zellen nicht gewährleistet wird. Nicht zuletzt stellen bestehende intraperitoneale Adhäsionen ein großes Problem für die Verteilung des Zytostatikums dar.

Eine Weiterentwicklung der intraperitonealen Chemotherapie stellt die hypertherme intraperitoneale Chemotherapie dar. Hierbei verabreicht man die Zytostatika in einer hyperthermen kristalloiden Lösung. Die lokoregionäre Temperaturerhöhung bewirkt eine Degeneration der Zellmembran mit Steigerung der Permeabilität und Chemosensitivität der Tumorzellen.

Vergleichsstudien haben bereits gezeigt, dass bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom eine intraperitoneale Chemotherapie der systemischen Chemotherapie hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens und des medianen Gesamtüberlebens überlegen ist (Alberts et al., 1996; Markman et al., 2001). Auch die Kombination einer systemischen mit einer intraperitonealen Chemotherapie erwies sich beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom wirksamer als eine ausschließlich intravenöse Therapie (Armstrong et al., 2006).

4. Der Einsatz einer intraperitonealen Immuntherapie wird derzeit in klinischen Studien erprobt und ist noch nicht vollständig etabliert. Bei dieser neuen Therapieoption werden verschiedene trifunktionale Antikörper gegen Adhäsionsmoleküle der Tumorzellen gerichtet, um eine komplexe Immunantwort gegen die Tumorzellen zu induzieren. Studien bei Peritonealkarzinose infolge gastrointestinaler Tumoren und beim Ovarialkarzinom wurden bereits durchgeführt (Stroehlein et al., 2005)

Optimierungen auf diesem Therapiegebiet sind derzeit aber immer noch nötig. Die vorliegende Arbeit bietet hierzu mögliche Ansätze.

2.3.5 Prognose

Unabhängig von der Art des Primärtumors ist die Prognose von Patienten mit Peritonealkarzinose schlecht, weil in therapeutischer Hinsicht überwiegend nur palliativ

agiert werden kann. Die mittlere Überlebenszeit beträgt 6 Monate (Hribaschek et al., 2001).

2.4 Desiderate

Studien haben gezeigt, dass die Kaskade des peritonealen Heilungsprozesses nach intraabdominellen Traumata nicht nur Relevanz für die postoperative Adhäsionsbildung sondern auch für das Wachstum und metastatische Potential von Tumorzellen hat (Eggermont et al., 1987; van den Tol et al., 1998). So demonstrieren experimentelle und klinische Arbeiten, dass durch chirurgisches Trauma intraabdominal Tumorrezidive gefördert werden (Busch et al., 1993; Bouvy et al., 1997). Die Forderung nach Substanzen, welche die Adhäsion der freien Tumorzellen an das verletzte Peritoneum verhindern, kristallisiert sich im Rahmen der Forschung immer mehr als dringliches Desiderat heraus. Antiadhäsive Barriereprodukte könnten zur Lösung beitragen: hierunter die nicht-visköse Flüssigkeitsbarriere Icodextrin (Adept®) und die hochvisköse Substanz Hyaluronsäure (Hyalobarrier®-Gel).

3. MATERIAL UND METHODE

3.1 Materialien

Im Folgenden werden die in dieser Arbeit verwendeten Kulturmedien, Medikamente, Verbrauchsmaterialien und Geräte vorgestellt.

3.1.1 Zellkultur

Primärkultur:

- SCOV3.ip-Zellen (Dr. Janet Price, MD; Anderson Cancer Center, University of Texas, USA und Frau PD Dr. med. Martina Breidenbach, Universitätsklinikum der RWTH Aachen)

Standardkulturmedium

- DEMEM/ Ham`s F12 mit L-Glutamin 500 ml; E 15-813 (PAA)
Penicillin / Streptomycin 100 ml; P 11-010 (PAA)
- DMSO (Dimethylsulfoxid) 1l; 4720-1 (Roth)
- Amphotericin B, 50 ml, 250 U/ ML; 15290-026 (Gibco BRL, Life Technologies GmbH, Eggenstein, D)
- Foetal Bovin Serum (FBS) Mycoplex, 500 ml; A 15-773 (PAA)

Gebrauchslösungen

- Trypsinlösung: Viralex Trypsin/ EDTA 100ml; L11-660 (PAA)
pro Liter PBS sind 0,5 g Trypsin und 0,2 g EDTA gelöst; in einer Flasche befinden sich 10 ml der gebrauchsfertigen Trypsinlösung.
- Trypanblaulösung: 0,5%, 100ml; 47285 (Serva)

Nährmedium

- Opti MEM + GlutaMax, 500 ml; 51985-026 (Gibco BRL, Life Technologies GmbH, Eggenstein, D)

Chemikalien

- Ethanol 70% (Merk, Darmstadt, D)

Pilotstudie

- Stammlösung: 1mg/ml Amyloglukosidase in 0,1 mol/l Na-acetatpuffer pH 4,5
- Amyloglukosidase, 100U, Calbiochem, Cat No 172425 + 4°C Activity 6,3 U/mg Lot B 62995
- Natrium acetate trihydrate, minimum 99,0%; S8625-250G (SIGMA)

3.1.2 Medikamente

Die Pilotstudie wird mit zwei icodextrinhaltigen Substanzen Adept® und Extraneal® durchgeführt. In den sich anschließenden Hauptversuchsreihen werden die zwei Substanzen Icodextrin (Adept®) und Hyaluronsäure (Hyalobarrier®-Gel) im Vergleich zu physiologischer NaCl-Lösung getestet.

Die jeweilige Zusammensetzung wird von den Herstellern übermittelt.

3.1.2.1 4%ige Icodextrinlösung (Adept®)(Baxter Deutschland GmbH, Heidelberg, D)

Adept® ist eine zum Einmalgebrauch bestimmte sterile, klare, farblose bis blassgelbe Flüssigkeit zur intraperitonealen Anwendung, die 4%iges Icodextrin (Gew./Vol.) in einer Elektrolytlösung enthält.

1 Liter Lösung enthält:

Icodextrin	40 g
Natriumchlorid	5,4 g
Natriumlactat	4,5 g
Calciumchlorid	257 mg
Magnesiumchlorid	51 mg
Theoretische Osmolalität	278 mosm/l

Elektrolytzusammensetzung pro Liter (ca.):

Natrium	133 mmol
Calcium	1,75 mmol
Magnesium	0,25 mmol
Chlorid	96 mmol
Lactat	40 mmol

Adept® wird in flexible Polyvinylchloridbeutel zu je 1 Liter bzw. 1,5 Liter Lösung abgefüllt.



3.1.2.2 7,5%ige Icodextrinlösung (Extraneal®) (Baxter Deutschland GmbH, Heidelberg,D)

1 Liter Lösung enthält:

Icodextrin	75 g
Natriumchlorid	5,4 g
Natriumlactat	4,5 g
Calciumchlorid	257 mg
Magnesiumchlorid	51 mg

Theoretische Osmolalität 282–286 mosm/l; pH=5.0-6.0

Elektrolytzusammensetzung pro Liter (ca.):

Natrium	132 mmol
Calcium	3,5 mmol
Magnesium	0,5 mmol
Chlorid	96 mmol
Lactat	40 mmol

3.1.2.3 Hyaluronsäure (Hyalobarrier®-Gel) (Fidia Advanced Biopolymers S.r.l., Abano Terme (PD), I)

Beim Hyalobarrier®-Gel handelt es sich um ein steriles farbloses und hochvisköses Gel, das durch Kondensation von Hyaluronsäure, einem Hauptbestandteil des menschlichen Bindegewebes, des Epithels und des Mesothels, gewonnen wird. Das Präparat wird in 10 ml Einwegspritzen dargereicht.



3.1.2.4 Physiologische NaCl-Lösung (B.Braun Melsungen, Melsungen, D)

Sterile und pyrogenfreie Spüllösung, dargereicht als:

Isotonische 0,9%ige NaCl-Lösung; B. Braun - Ecotainer[®] 500 ml

3.1.3 Sonstige Medikamente

Anästhetika

- Ketamin 10%; 10 ml (Ceva Santé Animale, Libourne Cedex, F)
- Xylazin 2% (Medistar, Holzwickede, D)

Analgetikum

- Temgesik[®] Ampullen, Injektionslösung 5 x 1 ml (Essex Pharma, München, D)

Antiseptikum

- Poly- Alkohol Haut; farbloses Antisepticum; Ch.-B.: 00106 (Antiseptica chem.-pharm. Produkte GmbH, Pulheim / Brauweiler, D)

3.1.4 Verbrauchsmaterialien

- Gewebekulturflaschen:
Cultur Flask 250 ml, 75 cm²; Typ 658170 (GreinerBio-One GmbH, Frickenhausen)
- Wasserbad, Typ 1003 (GFL, Burgwedel D)
- Kryoröhrchen Nalgene 5000- 1020; 1,5 ml
- Serologische Pipetten 10/25 µl (Eppendorf, Hamburg, D)
- Pasteurpipetten (Eppendorf, Hamburg, D)
- Eppendorfröhrchen (Eppendorf, Hamburg, D)
- Falkonröhrchen, 50 ml; 227261 (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, D)
- Einwegskalpell, Feather
- Pflasterband, 3M Durapore[™] (3M Deutschland GmbH, Neuss, D)
- Zuchtfutter – Ratten/ Mäuse, altromin 1314 (Altromin GmbH, Lage, D)
- VITROS 250 (Ortho – Clinical Diagnostics)
- Chirurgisches Nahtmaterial:
- Monocryl 5-0; Poliglecaprone 25 (Ethicon, Norderstedt, D)
- Vicryl 3-0; Polyglactin (Ethicon, Norderstedt, D)
- Prolene 6-0 (Ethicon, Norderstedt, D)

3.1.5 Geräte

- Begasungsbrutschrank: Typ Heraeus 240 (Heraeus Instr. GmbH, Düsseldorf, D)
- Neubauerkammer
- Mikroskop: Olympus IMT- 2 (Olympus Deutschl GmbH, Hamburg, D)
- Wasserstrahlpumpe
- Sterilbank: Typ HS 12, (Heraeus Instr. GmbH, Düsseldorf, D)
- Stickstoffbehälter
- Zentrifuge: Laborfuge 400R (Heraeus Instr. GmbH, Düsseldorf, D)
- Feinwaage, KERN 440-33 (A+M Corpor., USA)
- Waage, Sartorius 2200,00 g (decker waagenbau, D)
- Lochzange für Ohrmarkierung, 2 mm; Best.- Nr: 292-B2; (E. Becker u. Co GmbH, D)
- Ersatzhilfe für Lochzange, 2 mm Best.-Nr: 292-B2; (E. Becker u. Co GmbH)
- Flachbrettscanner (Canon GmbH, Krefeld, D)
- Digitalcamera, IXUS v³, 3.2 Megapixel (Canon GmbH, Krefeld, D)

3.2 Methode

3.2.1 Zellkultur

Die folgenden Ausführungen beziehen sich sämtlich auf die Anzüchtung und Bereitstellung des Kulturmediums und der SCOV3.ip-Tumorzellen.

3.2.1.1 Auftauen der Zellen

Das Kulturmedium, bestehend aus DEMEM/ Ham's F12, FBS, Penicillin/ Streptomycin und Amphotericin B, wird zunächst in einem Wasserbad auf 37 Grad Celsius vorgewärmt.

Die SCOV3.ip-Zellen befinden sich in Kryoröhrchen, die in Stickstoffbehältern gelagert werden. Bei Zimmertemperatur erfolgt eine behutsame Auftauung der Zellen, bis ein kleiner Rest Eis übrig bleibt. Die Kryoröhrchen werden vor dem Öffnen mit einem 70%igen Alkohol getränkten Tuch desinfiziert. Dann überführt man die Zellsuspension in ein steriles Falcon-Zentrifugenröhrchen und füllt dieses mit 10 ml des vorgewärmten Kulturmediums auf. Zur Zellreinigung wird das Gemisch zweimal für fünf bis sieben Minuten bei 1800 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt und das Zellpellet mit 1 ml Kulturmedium resuspendiert. In einer/mehreren Zellkulturflasche(n) wird entsprechend der Flaschengröße Kulturmedium vorgelegt (20 ml pro Flasche) und die Zellsuspension in Abhängigkeit von der Zellzahl auf ein bis zwei Flaschen verteilt. Die befüllten Zellkulturflaschen werden im Brutschrank bei 37 Grad Celsius mit einer Begasung von 5% CO₂ gelagert.

3.2.1.2 Zellzucht

Die Zellanzucht erfolgt in 75 cm² Gewebekulturflaschen im Brutschrank. Täglich wird das Wachstum kontrolliert, das alte Medium gegebenenfalls abgesaugt und durch frisches ersetzt. Zur Qualitätskontrolle wird dabei die Zellmorphologie, das Proliferations- und Migrationsverhalten unter dem Mikroskop stets mitbeurteilt. Nach

durchschnittlich zwei bis drei Tagen ist die Zellkultur konfluent und die Zellen können passagiert werden.

3.2.1.3 Passagieren der Zellen

Der Inhalt einer Gewebekulturflasche wird auf drei neue Flaschen überführt.

Die Zellen besitzen die Eigenschaft adhärent zu sein. Deshalb müssen sie vor dem Passagierschritt trypsinisiert werden: Dazu saugt man das Standardkulturmedium vorsichtig ab. Anschließend erfolgt die Inkubation der Zellen mit 10 ml Trypsinlösung bei 37 Grad Celsius. Dieser Schritt wird beendet, sobald sich die Zellen vom Flaschenboden lösen. Sobald alle Zellen frei schwimmen, wird der Trypsinlösung 20 ml Standardkulturmedium zugefügt. Das darin enthaltene fötale bovine Serum inhibiert die Reaktion und beendet somit den Ablösevorgang. Die Suspension aus Zellen, Trypsinlösung und Standardkulturmedium wird für fünf Minuten bei 1800 U/min in einem Falconröhrchen zentrifugiert. Danach wird der Überstand abgesaugt und das Zellpellet mit 10 ml Standardkulturmedium resuspendiert. Diese Suspension wird schließlich erneut zentrifugiert. Der Überstand wird abgesaugt und mit 1 bis 2ml Kulturmedium (in Abhängigkeit von der Anzahl der Flaschen) resuspendiert. Schließlich erfolgt die Aufteilung auf zwei bis drei neue Gewebekulturflaschen, welche im Brutschrank bei 37 Grad Celsius und einer Begasung von 5% CO₂ gelagert werden.

3.2.1.4 Zellzählung und Portionierung

Am Tag der Operation müssen die Zellen portioniert werden. Dazu erfolgt zunächst ein erneuter Ablöseschritt durch Trypsinisierung (s.o.). Die abgelösten Zellen werden vor dem letzten Waschschrift mit einer Neubauerkammer ausgezählt: Zu diesem Zweck mischt man 5 µl Medium mit 2 µl Zellsuspension und 1 µl Trypanblaulösung und pipettiert dieses Gemisch in die Zählkammer. Die beschädigten Zellen nehmen den blauen Farbstoff der Lösung auf und heben sich somit von den vitalen Zellen ab. So kann zwischen lebenden und toten Zellen differenziert und schließlich die genaue Zahl vitaler Zellen bestimmt werden: Nach dem Auszählen von vier Großquadraten berechnet man diese Zahl wie folgt: Durch Multiplikation der mittleren Zellzahl mit der

Verdünnung und dem konstanten Kammerfaktors (hier 10.000) erhält man die Zellzahl/ml. Anhand dieser Angaben werden jeweils 1×10^6 lebende Tumorzellen in 500 μ l Nährmedium gelöst und pro Tier zur Applikation bereitgestellt.

3.2.2 Tiermodell

Der Versuch zur Reduktion der Adhäsionen und zur Vermeidung der Ausbildung einer Peritonealkarzinose wird *in vivo* durchgeführt. Das für die vorliegende Studie angewandte Tiermodell ist etabliert und wurde bereits mehrfach verwendet. Die Versuche werden an weiblichen, immundefizienten Mäusen vom SCID-Typ NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J (Herkunft: CR France) durchgeführt. Diese Tierart gehört zu den Standardversuchstieren für Untersuchungen zur Adhäsionsprophylaxe. Die Auswahl der Tiere erfolgte unter besonderer Berücksichtigung der Immundefizienz. Aufgrund dieser Eigenschaft führt die verwendete Tumorzelllinie SKOV3.ip bei den Mäusen zum Tumorwachstum.

Die SCID-Mäuse waren zum Zeitpunkt der Operation im Mittel 9 bis 12 Wochen alt und hatten ein mittleres Körpergewicht von 22,40 g. Zur Eingewöhnung an die räumlichen Laborverhältnisse werden die Tiere nach Eingang für mindestens eine Woche präoperativ gehalten, beobachtet und gepflegt. Bei Krankheitssymptomen wie deutlichem Gewichtsverlust oder gestörtem Fressverhalten werden die entsprechenden Tiere nach Untersuchungen durch den Tierarzt gegebenenfalls getötet.

3.2.3 Tierhaltung

Die Tiere leben zu jeweils zwei bis vier Mäusen in einem Makrolonkäfig mit Holzeinstreu. Die Käfige stehen in abgeschlossenen Räumen in einer Umgebungstemperatur von 24 bis 26 Grad Celsius und Luftfeuchtigkeit von 60%. Ein konstanter 12-Stunden-Hell-Dunkel-Zyklus (6.00h-18.00h hell) regelt die Tag-Nacht-Abfolge. Unter besonderer Berücksichtigung der Immundefizienz der Mäuse wird seitens der Experimentatoren und des Pflegepersonals stets spezielle Schutzkleidung getragen.

Die Versuchsmäuse erhalten Wasser und Nahrung ad libitum. Beides bedarf einer speziellen Aufbereitung. Das Tränkewasser wird vor Bereitstellung mit Ozon angereichert, entchlort und zur Keimabtötung bestrahlt. Das Zuchtfutter, eine gepresste Mischung aus gemahlenden pflanzlichen Überresten, wird autoklaviert und den Tieren ad libitum angeboten.

Präoperativ bedürfen die Tiere keiner haltungsspezifischen Vorbereitung. Bis zum Tag der Operation erhalten sie freien Zugang zu Futter und Wasser. Postoperativ werden die Tiere bis zum Erwachen aus der Narkose in Zellstoff gebettet, um Wärmeverluste zu vermeiden. Wasser und Futter werden postoperativ direkt ad libitum bereitgestellt.

3.2.4 Pilotstudie

Bei der tierexperimentellen Hauptstudie sollen vergleichsweise drei verschiedene Substanzen (Icodextrin, Hyaluronsäure und physiologische NaCl-Lösung) auf ihre Fähigkeit zur Adhäsions- und Nidationsprophylaxe bei der Operation von Ovarialkarzinomen untersucht werden.

Das Präparat Adept[®] (Icodextrin in 4%iger Form) ist aufgrund seiner chemischen Struktur amylaseabhängig. Die α -1,4 Bindungen der Glukoseeinheiten des Dextrins sind Substrat für das Enzym Amylase. Im Gegensatz zur menschlichen Peritonealhöhle weisen Mäuse eine Tätigkeit dieses Enzyms in ihrem Peritonealraum auf. Um sicher zu gehen, dass das Icodextrin nicht vorzeitig durch die Amylase abgebaut wird, soll eine vorhergehende Pilotstudie klären, ob in dem für die Adhäsionen wichtigen Zeitfenster von null Stunden bis sieben Tagen ein relevanter Wirkspiegel des Icodextrins aufrechterhalten werden kann. Dazu werden 20 Tiere mit unterschiedlichen Konzentrationen und Flüssigkeitsmengen des Antiadhäsivums beimpft.

Es werden 4 Gruppen zu jeweils 5 Mäusen untersucht. Das Studiendesign ist in folgender Tabelle dargestellt:

Gruppe	Anzahl der Tiere	Icodextrin Konzentration/ Applikationsmenge
1	5	4% / 2ml
2	5	4% / 4ml
3	5	7.5% / 2ml
4	5	7.5% / 4ml

Tabelle 2: Gruppeneinteilung der Pilotstudie

Die Tiere werden randomisiert auf die Gruppen verteilt. Zur späteren Identifikation werden die Käfige nach Gruppenzugehörigkeit beschriftet.

Operatives Vorgehen:

Die Tiere werden in Rückenlage auf dem Operationstisch fixiert und die jeweilige Menge an Antiadhäsivum wird entsprechend dem Versuchsschema intraperitoneal injiziert.

Die Substanzen Hyaluronsäure und physiologische NaCl-Lösung werden in dieser Pilotstudie nicht untersucht, da ihr Abbau nicht durch Amylase geschieht.

3.2.5 Auswertung der Pilotstudie

Vor der Auswertung der Vorversuchsreihe erfolgt die Tötung der Mäuse. Dabei wird der Exitus manuell durch Genickbruch vorgenommen. Die Pilotstudie wird am siebten postoperativen Tag mittels Peritoneallavage und anschließender Durchführung eines Immunassays ausgewertet.

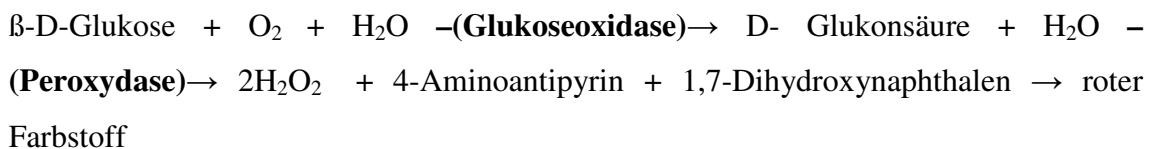
Peritoneallavage

Die getöteten Tiere werden in Rückenlage auf dem Operationstisch mit Pflasterband fixiert und der Bauch mehrmals mit Antiseptikum desinfiziert. Es wird ein ca. 2 cm großer medianer Zugang zur Peritonealhöhle gewählt, indem das Bauchfell und Peritoneum vorsichtig durchtrennt werden. Anschließend erfolgt die genaue Inspektion der eröffneten Bauchhöhle. Am kranialen Ende des Fazienschnittes wird ein Haltefaden befestigt, um Verluste applizierter Flüssigkeiten im weiteren Verlauf zu unterbinden. Den Tieren wird 0,5 ml physiologische NaCl-Lösung in die Bauchhöhle mittels Einmalspritze injiziert. Durch leichte Pendelbewegung am Haltefaden wird die NaCl-Lösung mit den Exsudaten der Bauchhöhle vermischt. Im Anschluss werden mit einer leeren Spritze aus der Peritonealflüssigkeit 0,5 bis 1 ml Lavage entnommen. Diese Flüssigkeitsproben werden für das Immunassay in 20 Eppendorfröhrchen überführt.

Immunassay

Die 20 Lavageproben aus der Pilotstudie werden direkt nach Entnahme auf Eis gelegt und bis zur Analyse bei einer Temperatur von -20 bis -70 Grad Celsius eingefroren. Im ersten Schritt wird die Basisglukosekonzentration der Probe bestimmt. Hierzu verwenden wir den „VITROS-250“-Analyser, ein In-vitro-Diagnostikum, welches die Glukosekonzentration mit Analyseplättchen quantitativ misst.

Die VITROS-Glukose-Methode mit Analyseplättchen wird unter Verwendung von VITROS-Glukoseplättchen und VITROS-Chemistryproducts Calibrator Kit 1 mit den VITROS-Chemistry-Systemen durchgeführt. Das Analyseplättchen enthält ein mehrschichtiges Analysat, das auf einer Polyesterschicht aufgebracht ist. Ein Tropfen der Dialysatprobe wird auf das Plättchen aufgetragen und von einer Verteilerschicht gleichmäßig in die darunter liegenden Schichten verteilt. Das Enzym Glukoseoxidase katalysiert die Oxidation der Glukose in der Probe, wobei Wasserstoffperoxid und Glukonat entstehen. An diese Reaktion schließt sich in Gegenwart eines Chromogens eine oxidative Kopplung an, die von Peroxidase katalysiert wird; dabei entsteht ein roter Farbstoff. Die Intensität dieses Farbstoffs wird reflexionsspektrophotometrisch gemessen. Das Reaktionsprinzip läuft nach folgendem Schema:



Im zweiten Schritt wird die Dialysatprobe mit dem Amyloglukosidase-Standardmedium in einem Verhältnis von 1:1 gemischt. Diese Mischung wird bei 55 Grad Celsius für mindestens 15 Minuten inkubiert, so dass das Enzym Amyloglukosidase seine Wirkung entfalten kann. Anschließend misst man die totale Glukosekonzentration dieser Proben noch einmal im „VITROS-250“-Analyser.

Die Icodextrinkonzentration errechnet sich schließlich als Differenz der Glucosekonzentration vor und nach Inkubation mit Amyloglukosidase.

3.2.6 Hauptstudie

Im Hauptversuch werden vergleichsweise drei verschiedene Substanzen auf ihre Fähigkeit zur Adhäsionsprophylaxe und Vermeidung der Ausbildung einer Peritonealkarzinose getestet: Icodextrin, Hyaluronsäure und physiologische NaCl-Lösung. Eine weitere Gruppe erhält kein Medikament und gilt als Kontrollgruppe mit den entsprechenden Referenzwerten. In jeder Versuchsgruppe werden 10 Tiere operiert. Die Zuteilung zu den einzelnen Gruppen erfolgt randomisiert. 21 Tage nach dem operativen Eingriff werden die Mäuse relaparotomiert und die gewonnenen Werte nach etablierten Schemata (vgl. 3.2.7) ausgewertet.

3.2.6.1 Präoperative Vorbereitungen

Vor der Narkoseeinleitung wird das genaue Gewicht der Tiere bestimmt. In Abhängigkeit von diesem Wert wird die benötigte Menge an Anästhetika berechnet. Die Mäuse werden in der Hand des Operators in Rückenlage fixiert, der Bauchbereich großzügig desinfiziert und das Anästhetikum intraperitoneal injiziert. Im Anschluss daran erhalten die Tiere per s.c. Injektion Temgesik als Schmerzmedikation. Dies geschieht nach folgendem Schema (Tabelle 3):

Medikament		Dosierung	Applikation
Anästhetika	Ketamin 10%	100 mg / kg KG	i.p.
	Xylazin 2%	0,5 mg / kg KG	i.p.
Analgetikum	Temgesik	0,1 µg / g	s.c.

Tabelle 3: Dosierungsschema der Medikamente

Anschließend wird zur Überprüfung der völligen Schmerzfreiheit an einem Fuß ein Schmerzreiz gesetzt. Reagieren die Mäuse darauf nicht mehr, werden sie zur späteren Identifikation am Ohr mit einer Lochzange markiert.

3.2.6.2 Laparotomie

Die anästhesierten, analgesierten und markierten Tiere werden in Rückenlage auf dem Operationstisch mit Pflasterband fixiert.



Abbildung 1: Fixierung der Maus auf dem Operationstisch

Der Bauch wird nochmals mehrmals mit Antisepticum desinfiziert. Anschließend erfolgt ein 2 cm langer Medianschnitt an der Bauchwand, mit dem die Peritonealhöhle eröffnet wird. Nach Inspektion und Bestätigung normaler intraabdomineller Verhältnisse werden den Tieren an der rechten lateralen Bauchwand mit dem Skalpell oberflächliche Peritonealverletzungen gesetzt.



Abbildung 2: Setzen der Peritonealverletzung

Aus Gründen der Vergleichbarkeit weisen diese Läsionen eine streng definierte Größe, Tiefe und Ausdehnung auf. Danach erfolgt die Einteilung in vier Gruppen.

	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4
Anzahl der Tiere	10	10	10	10
Beobachtungszeit	21 Tage	21 Tage	21 Tage	21 Tage
Tumorzellen SKOV3.ip (0,5 ml)	+	+	+	+
Icodextrin (1ml)		+		
Hyaluronsäure (1 Strich)			+	
NaCl-Lösung (1 ml)				+

Tabelle 4: Versuchsschema Hauptstudie

Vor Applikation der Tumorzellen und antiadhäsiven Substanzen wird am kranialen Ende des Bauchschnittes ein Haltefaden befestigt. Dieser Vorgang dient im weiteren Verlauf der Operation dazu ein ungewolltes Austreten der zuvor applizierten Flüssigkeiten zu verhindern. Danach erfolgt die intraabdominelle Applikation der bereits vorportionierten Tumorzellen und antiadhäsiven Mittel aus Einmalspritzen (Tabelle 4). Die Volumina der applizierten Flüssigkeiten sind unabhängig von Art und Konzentration stets konstant. Auch die Gewichtsunterschiede der Tiere werden hierbei nicht berücksichtigt. Die Applikation erfolgt immer in einer definierten Reihenfolge: In einem ersten Schritt werden die Tumorzellen verabreicht; in einem zweiten erfolgt die Medikamentengabe. Anschließend wird das Peritoneum mit fortlaufender Naht (3-0 Vicryl) verschlossen. Die Bauchdecke wird durch drei Einzelknopfnähte mit 5-0 Monocryl adaptiert.

3.2.7 Auswertung der Hauptstudie

Die Tötung durch Genickbruch und die anschließende Relaparotomie der Tiere erfolgt nach 21 postoperativen Tagen. Ausgewertet werden die Adhäsionsbildung und das Tumorwachstum. Dies erfolgt jeweils unter qualitativen und quantitativen

Gesichtspunkten. Das Augenmerk richtet sich auf Adhäsionsscore und Lokalisation der Adhäsion sowie Tumorscore, Lokalisation des Tumors, Tumorgewicht, digitale Tumorflächenmessung und Tumorhistologie. Die Analyse erfolgt durch zwei unabhängige Untersucher.

3.2.7.1 Adhäsionsscore

Dieser qualitativen Betrachtung liegt die Zühlke-Klassifikation zugrunde (Zühlke et al., 1990). Die Methode ist bereits mehrfach beschrieben worden und hat als Einteilung zur Ermittlung des „adhesion score“ (AS) Anwendung gefunden. In einer Werteskala von 0 bis 4 werden den Adhäsionscharakteren entsprechende Werte zugeordnet. Folgende Tabelle zeigt die Klassifikation:

Score	Charakteristika
0	Keine Adhäsion
1	Leichte Adhäsion: Lösung durch stumpfes Präparieren möglich
2	Stärkere Adhäsion: stumpfes Präparieren möglich, teilweise scharfes Präparieren notwendig; Beginn von Vaskularisierung
3	Starke Adhäsion: Lyse nur durch scharfes Präparieren möglich; klare Vaskularisierung
4	Sehr starke Adhäsion: Lyse nur durch scharfes Präparieren möglich; starke Verwachsung der Organe durch schwere Adhäsionsbildung, Beschädigung der Organe kaum zu verhindern

Tabelle 5: Modifizierte Klassifikation nach Zühlke et al. (1990)

Werden bei einem Versuchstier mehrere Adhäsionen gefunden, so wird für die Berechnung der mittlere Adhäsionsscore gewertet.

3.2.7.2 Lokalisation der Adhäsion

Die quantitative Erfassung der Adhäsionsbildung erfolgt nach einer modifizierten Klassifikation nach van den Tol et al. (2005). Dabei wird sowohl die Lokalisation der Adhäsion als auch die Häufigkeit des Auftretens pro Versuchstier registriert. Jedes Tier

wird entsprechend einem Schema aus sechs verschiedenen Lokalisationsoptionen ausgewertet. Tabelle 6 veranschaulicht das Konzept.

Uterine Hörner Peritoneum rechts Peritoneum links Leber Niere Darm

Tabelle 6: Modifizierte Klassifikation nach van den Tol et al. (2005)

3.2.7.3 Tumorscore

Die Bestimmung der Ausdehnung des Tumors (Tumorscore) erfolgt anhand der Klassifikation nach Steller et al. (1988), welche aufgrund der Wahl kleinerer Versuchstiere entsprechend modifiziert und optimiert wurde. Die Größenausdehnung des Tumors wird einer Werteskala zugeordnet. Es werden 4 Wertigkeitsgruppen unterschieden (Tabelle 7). Die Ausdehnung wird mittels Schiebelehre vermessen.

Score	Charakteristika
0	Kein Tumorwachstum
1	Tumordurchmesser (TU-Ø) kleiner 0,2 cm
2	Tumordurchmesser (TU-Ø) zwischen 0,2 cm und 0,5 cm
3	Tumordurchmesser (TU-Ø) größer 0,5 cm

Tabelle 7: Skala zur Bestimmung der Tumorausdehnung nach Steller et al. (1988)

Wird bei einer Versuchsmaus an mehreren Stellen tumoröses Gewebe gefunden, so werden die jeweiligen Scores summiert und jeder Maus ein Gesamtscore (Gesamtausdehnung des Tumors) zugeordnet.

3.2.7.4 Lokalisation des Tumors

Die Bestimmung der Lokalisation der Tumorbildung erfolgt in Analogie zum Dokumentationsschema der Adhäsionslokalisation (modifizierte Klassifikation nach van den Tol et al., 2005).

3.2.7.5 Digitale Tumorflächenmessung

Die Gesamtfläche der Tumorzellausbreitung auf parietalem und viszeralem Peritoneum sowie an intraabdominellen Organen wird digital vermessen. Nach Eröffnung der Bauchhöhle werden die intraabdominellen Verhältnisse genauestens inspiziert und auf Tumorwachstum untersucht. Die Tumorbereiche werden säuberlich herauspräpariert und ihre Flächenausbreitung mit einem wasserfesten Stift auf transparente Folien übertragen. Dann erfolgt die Einscannung der Folien mit einem Flachbrettscanner auf den PC. Die eingescannten Umrisse werden im Dateiformat „JPEG“ abgespeichert und mit dem Messprogramm „Olympus DP Soft“ weiterverarbeitet. So können die Umrisse der Tumorflächen mit der PC-Maus umfahren werden und die Flächeninhalte der einzelnen Konturen errechnet und addiert werden. Die Summe stellt die Gesamttumorfläche dar.

3.2.7.6 Tumorgewicht

Das gewonnene Tumorgewebe wird mit einer spezifischen Feinwaage ausgewogen und die Daten statistisch ausgewertet.

3.2.7.7 Histologie

Zur histologischen Auswertung des Tumorgewebes werden von jeder Maus Tumorproben entnommen und bis zur Aufbereitung in formalinhaltigen Röhrchen

gelagert. Die histologischen Schnitte werden einer Hämatoxylin-Eosin-Färbung unterzogen und mikroskopisch ausgewertet.

3.2.8 Fotodokumentation

Mit einer Digitalkamera werden die Ergebnisse der Versuche bildlich festgehalten. Anschließend erfolgt die Bearbeitung der Fotos auf dem Computer mit dem Programm „Adobe Photoshop“.

3.2.9 Statistische Auswertung

Die gewonnenen Daten werden unter Zuhilfenahme von Microsoft Excel und des Statistikprogrammes SPSS 10.0 in eine Datenmatrix gebracht. Alle Berechnungen und graphischen Darstellungen werden mit diesen Programmen durchgeführt. Folgende Tests werden dabei verwendet:

- Varianzanalyse der Einfachklassifikation (ANOVA)
- Tukey's Studentized Range Test
- Bonferoni Holm Analyse
- Man-Whitney-U Test

4. ERGEBNISSE

4.1 Pilotstudie

Im Peritonealraum der Maus kann die Tätigkeit des Enzyms Amylase nachgewiesen werden. Dieses Enzym spaltet Icodextrin in Oligosaccharide und verhindert somit dessen Aktivität im Peritonealraum. Der an dieser Stelle dokumentierte Vorversuch sollte klären, ob trotz der Präsenz dieses Enzyms ein intraperitonealer Wirkstoffspiegel von Icodextrin über 14 Tage aufrechterhalten werden kann. Der Nachweis war erbracht, wenn sich aus der gewonnenen Peritoneallavage im Immunassay nach Wang et al. (2002) eine Icodextrinkonzentration bestimmen ließ. Der positive Differenzwert der Glucosekonzentration vor und nach Inkubation der Lavage-Proben mit Amyloglukosidase entsprach der Icodextrinkonzentration.

Die nachfolgenden Tabellen geben einen Überblick über die einzelnen Werte der unterschiedlichen Icodextrinkonzentrationen und –mengen im Immunassay.

1) 37°C / 60min

		Glc-Nullwert (mmol/l)	Glc-Wert nach Inkubation (mmol/l)	Differenzwert* (mmol/l)			Glc-Nullwert (mmol/l)	Glc-Wert nach Inkubation (mmol/l)	Differenzwert* (mmol/l)
1	4% 2ml	1.7	2.0	0.3	11	7.5% 2ml	1.1	1.4	0.3
2	4% 2ml	1.4	1.6	0.2	12	7.5% 2ml	1.1	1.4	0.3
3	4% 2ml	1.1	1.4	0.3	13	7.5% 2ml	1.2	1.4	0.2
4	4% 2ml	1.3	1.4	0.1	14	7.5% 2ml	1.1	1.2	0.1
5	4% 2ml	1.5	1.8	0.3	15	7.5% 2ml	1.2	1.4	0.2
6	4% 4ml	1.1	1.4	0.3	16	7.5% 4ml	1.3	1.4	0.1
7	4% 4ml	1.2	1.4	0.2	17	7.5% 4ml	1.1	1.2	0.1
8	4% 4ml	1.5	1.6	0.1	18	7.5% 4ml	1.1	1.4	0.3
9	4% 4ml	1.2	1.4	0.2	19	7.5% 4ml	1.1	1.2	0.1
10	4% 4ml	1.4	1.6	0.2	20	7.5% 4ml	1.0	1.2	0.2

* Differenzwert entspricht der Icodextrinkonzentration

Tabelle 8: Ergebnisse der Pilotstudie (I)

2) 55°C / 15min

		Glc-Nullwert (mmol/l)	Glc-Wert nach Inkubation (mmol/l)	Differenzwert* (mmol/l)			Glc-Nullwert (mmol/l)	Glc-Wert nach Inkubation (mmol/l)	Differenzwert* (mmol/l)
1	4% 2ml	1.7	1.8	0.1	11	7.5% 2ml	1.1	1.4	0.3
2	4% 2ml	1.4	1.6	0.2	12	7.5% 2ml	1.1	1.4	0.3
3	4% 2ml	1.1	1.4	0.3	13	7.5% 2ml	1.2	1.4	0.2
4	4% 2ml	1.3	1.6	0.3	14	7.5% 2ml	1.1	1.6	0.5
5	4% 2ml	1.5	2.0	0.5	15	7.5% 2ml	1.2	1.4	0.2
6	4% 4ml	1.1	1.4	0.3	16	7.5% 4ml	1.3	1.2	-0.1
7	4% 4ml	1.1	1.4	0.3	17	7.5% 4ml	1.1	1.2	0.1
8	4% 4ml	1.5	1.8	0.3	18	7.5% 4ml	1.1	1.4	0.3
9	4% 4ml	1.2	1.4	0.2	19	7.5% 4ml	1.1	1.2	0.1
10	4% 4ml	1.4	1.6	0.2	20	7.5% 4ml	1.0	1.4	0.4

* Differenzwert entspricht der Icodextrinkonzentration

Tabelle 9: Ergebnisse der Pilotstudie (II)

Unabhängig von der Inkubationstemperatur und -zeit konnte bei allen 10 Tieren der Gruppen mit 4%iger Icodextrinlösung (Adept®) (2ml und 4ml) ein positiver Differenzwert errechnet und damit ein positiver Icodextrinnachweis erbracht werden. Bei den Gruppen mit 7.5%iger Icodextrinlösung (Extraneal®) ließen sich ebenfalls positive Differenzwerte berechnen und somit Icodextrin nachweisen. Lediglich ein Tier der 2ml-Gruppe bei 55°C und fünfzehnminütiger Inkubation wies einen negativen Differenzwert und somit keinen Icodextringehalt auf. Eine Erklärung ließ sich hierfür nicht finden.

4.2 Hauptstudie

Die Hauptversuche verliefen bei allen 40 Tieren ohne Komplikationen. Alle Mäuse überlebten den Beobachtungszeitraum von 21 postoperativen Tagen konnten schließlich erfolgreich relaparotomiert und ihre Befunde ausgewertet werden. Prä-, intra- und

postoperativ kam es zu keinen Zwischenfällen, etwa durch Anästhesie, Analgesie oder Laparotomie. Keines der Mäuse wies präoperativ Adhäsionen oder makroskopisch erkennbare Pathologien im Bauchraum auf. Postoperativ wurden keine akuten Ilei, Peritonitiden oder überschießendes Tumorwachstum beobachtet. Die Laparotomiewunden verheilten bei allen Mäusen regelrecht. Zu Flüssigkeitsverlusten aus den Wunden kam es nicht. Von den operierten Mäusen entwickelten alle Tiere bis zum Zeitpunkt der Relaparotomie eine Peritonealkarzinose. Adhäsionsbildung wurde nicht bei allen Tieren beobachtet.

Nachfolgend werden die Ergebnisse der verschiedenen Gruppen einzeln dargestellt, um eine differenzierte Betrachtung zu ermöglichen.

4.2.1 Adhäsionen

4.2.1.1 Adhäsionsscore

Basierend auf der modifizierten Klassifikation nach Zühlke et al. (1990) wurden die gefundenen Ergebnisse ausgewertet und jede Adhäsion ihrem jeweiligen Score zugeordnet.

Nachfolgende Tabelle gibt - um eine kritischere Prüfung und Bewertung zu ermöglichen - einen numerischen Überblick über die Stärke der Adhäsionen, die bei den Versuchstieren in den verschiedenen Versuchsgruppen gefunden wurden.

Adhäsionsscore (AS)	0	1	2	3	4
	Keine Adhäsion	Leichte Adhäsion	Stärkere Adhäsion	Starke Adhäsion	Sehr starke Adhäsion
Kontrolle	0	0	4	4	2
Icodextrin	2	5	1	1	1
Hyaluronsäure	9	0	0	1	0
NaCl-Lösung	1	2	4	2	1

Tabelle10: Auswertung der Adhäsionsscores in den verschiedenen Versuchsgruppen

Die Qualität der Adhäsionsbildung in der Kontrollgruppe war bei zwei Tieren „sehr stark“ (AS 4). Vier Mäuse wiesen „starke“ (AS 3), vier Mäuse „stärkere“ (AS 2)

Verwachsungen auf. „Keine“ (AS 0) oder nur „leichte“ (AS 1) Adhäsionsbildung wurde nicht gefunden.

In der Icodextrin-Gruppe waren zwei Mäuse frei von Adhäsionsbildungen (AS 0). Fünf Tiere zeigten bei der Relaparotomie eine „leichte“ Adhäsionsbildung (AS 1). Eine Maus wies Adhäsionen „stärkerer“ Art (AS 2) auf; eine Maus zeigte „starke“ (AS 3), eine weitere Maus „sehr starke“ Verwachsungen (AS 4).

In der mit Hyaluronsäure beimpften Gruppe wurde bei neun Tieren keine Adhäsionsbildung gefunden (AS 0). Lediglich eine Maus zeigte „starke“ Verwachsungen (AS 3). „Leichte“, „stärkere“ oder „sehr starke“ Adhäsionsbildungen traten nicht auf.

In der NaCl-Gruppe konnten alle Qualitäten von Adhäsionsbildung gefunden werden. Eine Maus war frei von Adhäsionen (AS 0). Zwei Mäuse zeigten „leichte“ (AS 1), vier stärkere Adhäsionen (AS 2). „Starke“ Verwachsungen (AS 3) wurden bei zwei Mäusen registriert, ein Tier bildeten „sehr starke“ Adhäsionen (AS 4) aus.

Das nachfolgende Diagramm (Abb.3) veranschaulicht für jede Versuchsgruppe die wesentliche Aussage. Es trägt die absoluten Häufigkeiten der jeweiligen Adhäsionsscores der einzelnen Testgruppen gegeneinander auf.

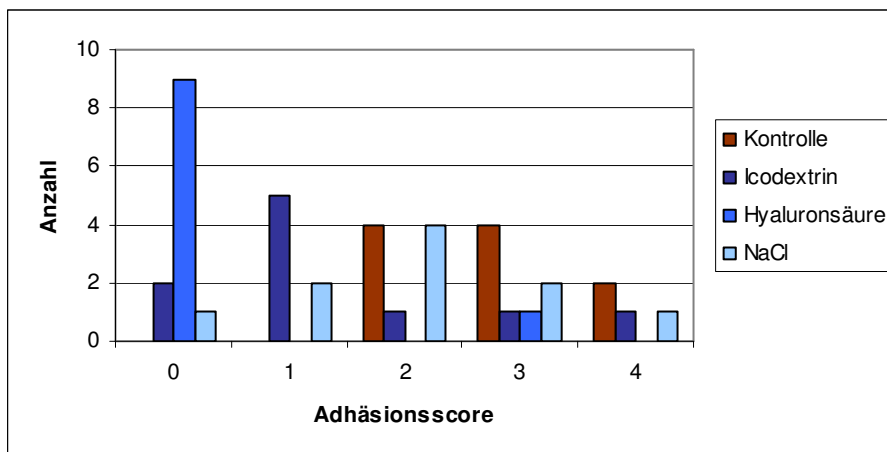


Abbildung 3: Verteilung der Adhäsionsscores pro Versuchsgruppe im Vergleich

Tabelle 11 gibt einen Überblick über den Medianwert, das Maximum und das Minimum jeder Versuchsgruppe sowie die statistische Auswertung. Die statistische Auswertung der Scores erfolgte mit dem Man-Whitney-U Test (Level 95%).

	Median	Min.	Max.	Signifikanz			
				Kontr.	Ico-dextrin	Hyaluronsäure	NaCl
Kontr.	3	2	4		s	s	ns
Ico-dextrin	1	0	4	s		s	ns
Hyaluronsäure	0	0	3	s	s		s
NaCl-Lösung	2	0	4	ns	ns	s	

s = Signifikanz; ns = keine Signifikanz

Tabelle 11: Median, Minimum, Maximum und Statistik der Adhäsionscores

In der unbeimpften Kontrollgruppe bildeten die Mäuse die signifikant stärksten Adhäsionen im Vergleich zum Icodextrin und zur Hyaluronsäure aus. Der mediane Score lag bei 3 mit einem Minimum von 2 und einem Maximum von 4. In der mit Hyaluronsäure beimpften Versuchsgruppe konnten die Adhäsionen signifikant zu allen Gruppen (Kontrolle, Icodextrin, NaCl-Lösung) verringert werden (Median 0). In der NaCl-Gruppe (Median 2) waren die Adhäsionsbildungen im Vergleich zur Kontrollgruppe zwar verringert, der Unterschied war jedoch nicht signifikant.

Die Boxplot-Darstellung (Abb. 4) veranschaulicht noch einmal für jede Versuchsgruppe die Ergebnisse. Sie hebt das Maximum, Minimum und den Medianwert der einzelnen Gruppen hervor.

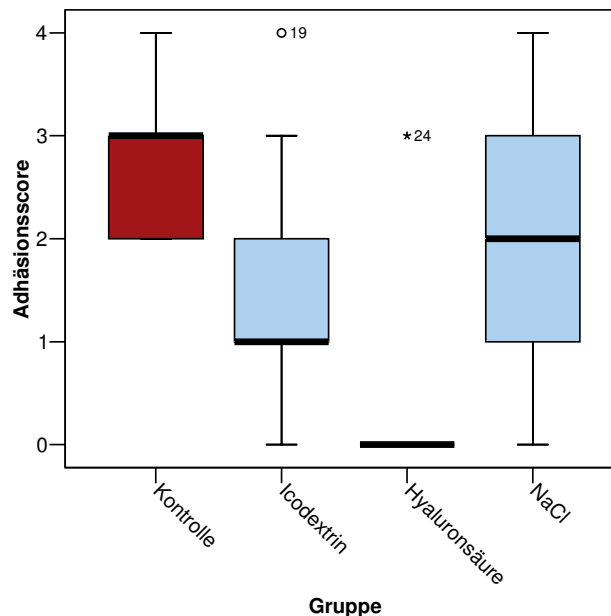


Abbildung 4: Boxplot Adhäsionsscore

4.2.1.2 Lokalisation der Adhäsion

Die Lokalisation der jeweiligen Adhäsionen wurde anhand des modifizierten Auswertungsschema nach van den Tol et al. (2005) bestimmt. Tabelle 12 gibt einen Überblick über die Adhäsionslokalisierung und deren Häufigkeit pro Versuchsgruppe.

Lokalisation der Adhäsion	Uterine Hörner	Peritoneum rechts	Peritoneum links	Leber	Niere	Darm
Kontrolle	0	10	0	1	2	1
Icodextrin	7	0	0	1	0	1
Hyaluronsäure	0	0	0	0	0	1
NaCl-Lösung	7	0	0	0	0	5

Tabelle 12: Lokalisation der Adhäsionen in den einzelnen Versuchsgruppen

In der Kontrollgruppe zeigten sich bei allen zehn Tieren Adhäsionsbildungen am rechten parietalen Peritoneum. Zusätzlich wies eine Maus Verwachsungen an der Leber und eine Maus Adhäsionen am Darm auf. Die Niere war ebenfalls bei zwei Mäusen verwachsen.

Von den acht Mäusen aus der Icodextrin-Gruppe, die Adhäsionen aufwiesen, waren diese bei sieben Tieren an den uterinen Hörnern lokalisiert. Eine Maus hatte Verwachsungen an der Leber, eine Maus zusätzlich Adhäsionen am Darm. Am parietalen Peritoneum traten keine Verwachsungen auf.

Die Tiere der Versuchsreihe zur Hyaluronsäure waren zu 90% adhäsionsfrei. Bei lediglich einer Maus waren Verwachsungen am Darm zu finden.

In der NaCl-Gruppe zeigten die meisten Tiere (sieben Mäuse) verwachsene uterine Hörner. Darmadhäsionen waren bei fünf Tieren zu finden. Andere Bereiche waren nicht betroffen.

Das nachfolgende Diagramm (Abb. 5) veranschaulicht für jede Versuchsgruppe die Verteilung der Adhäsionslokalisationen. Es trägt die absoluten Häufigkeiten der jeweiligen Adhäsionslokalisationen der einzelnen Testgruppen gegeneinander auf.

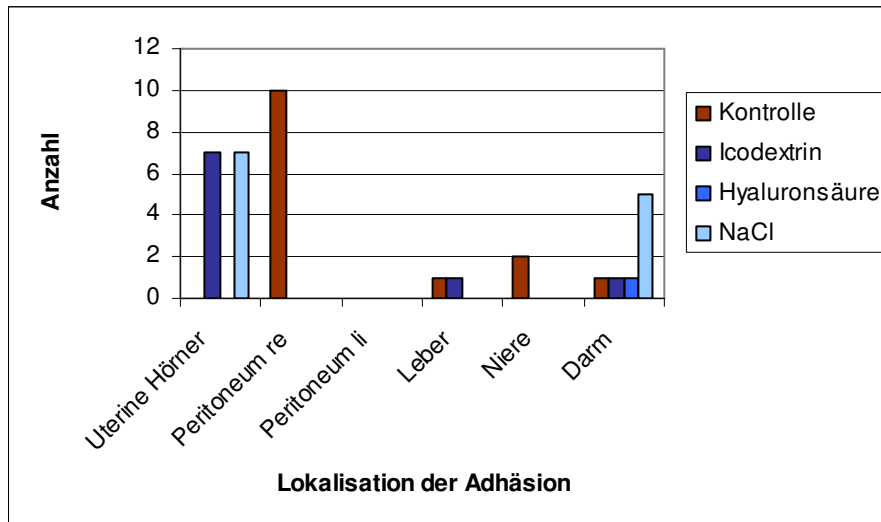


Abbildung 5: Verteilung der Adhäsionslokalisationen pro Versuchsgruppe im Vergleich

Die nachfolgenden drei Abbildungen veranschaulichen die Ergebnisse zur Adhäsionsbildung.



Abbildung 6: Adhäsionsstrang



Abbildung 7: Darmadhäsion an das rechte parietale Peritoneum

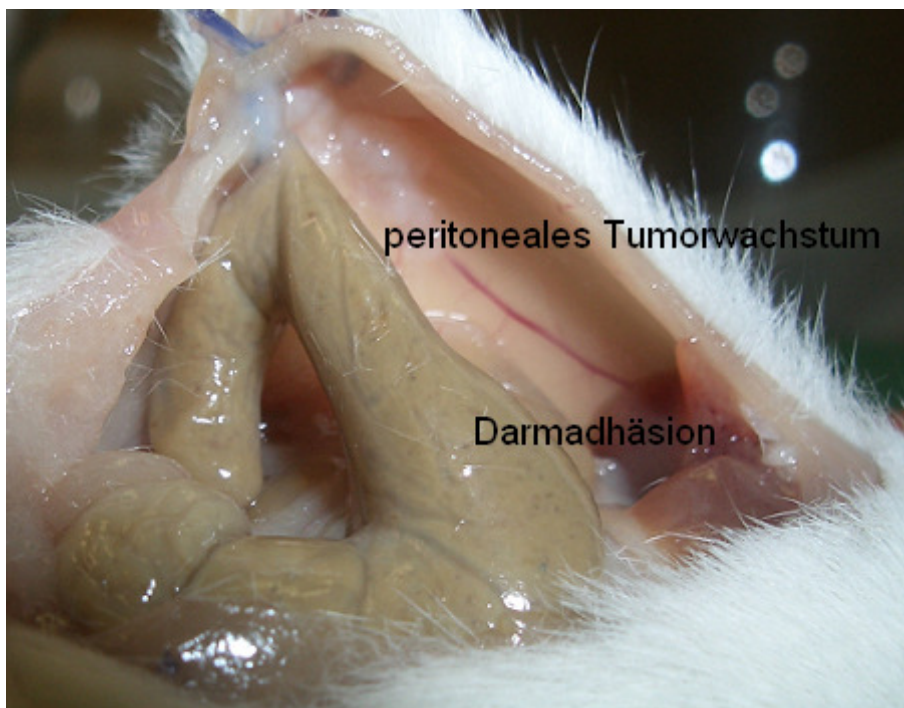


Abbildung 8: Darmadhäsion und peritoneales Tumorwachstum rechts

4.2.2 Tumor

4.2.2.1 Tumorscore

Die Auswertung des Tumorscores erfolgte nach der modifizierten Klassifikation nach Steller et al. (1988). Alle Tiere zeigten bei der explorativen Relaparotomie Tumorbildung.

Nachfolgend werden die Ergebnisse der verschiedenen Gruppen einzeln dargestellt, um eine differenziertere Betrachtung und kritische Prüfung zu ermöglichen. Den Versuchstieren wurden die folgenden Scores zugeordnet:

Tumorscore (TS)	0	1	2	3
	Kein Tumorbildung	TU-Ø < 0,2 cm	0,2 cm ≤ TU-Ø ≤ 0,5 cm	TU-Ø > 0,5 cm
Kontrolle	0	1	3	6
Icodextrin	0	5	4	1
Hyaluronsäure	0	7	3	0
NaCl-Lösung	0	4	6	0

Tabelle 13: Auswertung der Tumorscores in den verschiedenen Versuchsgruppen

In der Kontrollgruppe wurde bei sechs Mäusen der Tumorscore 3 gewertet, d.h. die gefundenen Tumoren zeigten einen Durchmesser größer als 0,5 cm. Bei drei Mäusen lag der Tumordurchmesser zwischen 0,2 cm und 0,5 cm (TS 2), ein Tier wies einen Tumordurchmesser kleiner als 0,2 cm auf (TS 1).

In der Versuchsreihe zum Icodextrin lag der Tumordurchmesser bei fünf Tieren bei weniger als 0,2 cm (TS 1). Bei vier Mäusen maß er zwischen 0,2 cm und 0,5 cm (TS 2). Dem Tumorbefund einer Maus wurde der Score 3 zugeordnet.

Der Tumordurchmesser der Hyaluronsäure-Gruppe lag in sieben Fällen bei Werten, die kleiner 0,2 cm maßen. Diese wurden somit als Score 1 gewertet. Bei drei Mäusen fand sich ein Tumordurchmesser zwischen 0,2 cm und 0,5 cm (TS 2). Der Tumorscore 3 wurde keiner Maus zugewiesen.

Mehr als die Hälfte der Tiere der NaCl-Gruppe (sechs Mäuse) entwickelten einen Tumor mit einem Durchmesser zwischen 0,2 cm und 0,5 cm (TS 2). Vier Mäuse zeigten einen Tumordurchmesser kleiner als 0,2 cm (TS 1). Tumordurchmesser größer als 0,5 cm konnten bei keiner Maus der NaCl-Gruppe gefunden werden.

Das folgende Diagramm (Abb. 9) hebt für jede Versuchsgruppe noch einmal die wesentlichen Ergebnisse hervor. Es trägt die absoluten Häufigkeiten der jeweiligen Tumorscores der einzelnen Testgruppen gegeneinander auf.

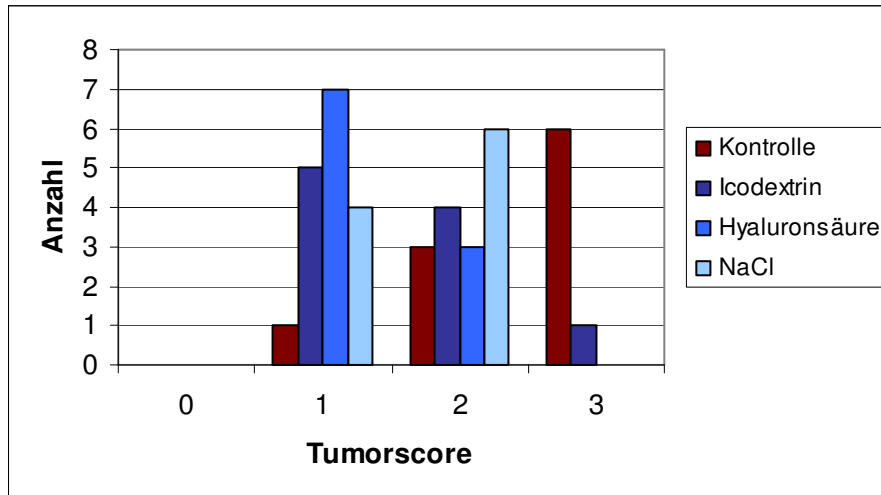


Abbildung 9: Verteilung der Tumorscores pro Versuchsgruppe im Vergleich

Tabelle 14 gibt einen Überblick über den Medianwert, das Maximum und das Minimum jeder Versuchsgruppe sowie die statistische Auswertung. Die statistische Auswertung der Scores erfolgte mit dem Man-Whitney-U Test auf einem Konfidenzniveau von 95%.

	Median	Min.	Max.	Signifikanz			
				Kontr.	Ico-dextrin	Hyaluron-säure	NaCl
Kontr.	3	1	3		s	s	s
Ico-dextrin	1,5	1	3	s		ns	ns
Hyaluron-säure	1	1	2	s	ns		ns
NaCl-Lösung	2	1	2	s	ns	ns	

s = Signifikanz; ns = keine Signifikanz

Tabelle 14: Median, Minimum, Maximum und Statistik der Tumorscores

Die Mäuse aus der unbehandelten Kontrollgruppe bildeten die signifikant größten Tumoren aus. Der Medianwert lag bei 3. Die Tumorbildung bei den mit Hyaluronsäure beimpften Tieren war im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant verringert (medianer Score 1). Die Tiere aus der Icodextrin- und NaCl-Gruppe zeigten ebenfalls signifikant verringerte Tumorgewebsbildungen. Zwischen den einzelnen Präparaten Hyaluronsäure, Icodextrin und NaCl-Lösung konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Die Boxplot-Darstellung (Abb. 10) veranschaulicht noch einmal für jede Versuchsgruppe die Ergebnisse. Sie hebt das Maximum, Minimum und den Medianwert der einzelnen Gruppen hervor.

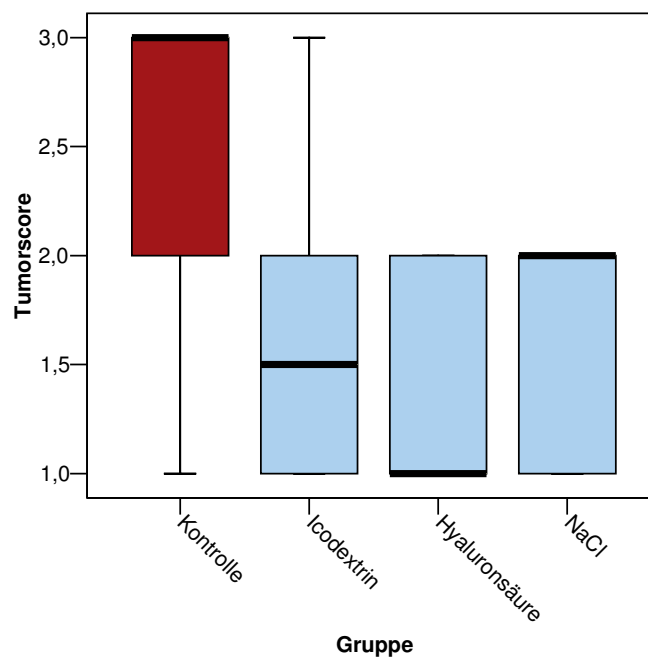


Abbildung 10: Boxplot Tumorscore

4.2.2.2 Lokalisation des Tumors

In Analogie zur Auswertung der Lokalisation der Adhäsionen wurden auch die Tumore entsprechend ihrer Lokalisation unter Verwendung der modifizierten Klassifikation nach van den Tol et al. (2005) ausgewertet.

Tabelle 15 gibt einen Überblick über die Tumorlokalisation und deren Häufigkeit pro Versuchsgruppe.

Lokalisation des Tumors	Uterine Hörner	Peritoneum rechts	Peritoneum links	Leber	Niere	Darm
Kontrolle	0	10	0	0	2	1
Icodextrin	0	10	0	0	0	0
Hyaluronsäure	0	10	1	0	0	0
NaCl-Lösung	0	10	0	0	0	5

Tabelle 15: Lokalisation der Tumoren in den einzelnen Versuchsgruppen

Alle zehn Mäuse der Kontrollgruppe zeigten Tumorwachstum am rechten parietalen Peritoneum. Zwei Tiere wiesen zudem Tumorbildung an den Nieren, eine Maus zusätzlich Tumorgewebe am Darm auf.

In der Versuchsreihe mit Icodextrin wurden bei allen zehn Tieren Tumoren am rechten parietalen Peritoneum gefunden. Die anderen Organe waren tumorfrei.

Alle zehn Mäuse, die mit Hyaluronsäure beimpft worden waren, wiesen Tumorbildung am rechten parietalen Peritoneum auf. Bei einer Maus war zudem das linke parietale Peritoneum von tumorösem Gewebe befallen.

Alle zehn Mäuse, die NaCl-Lösung erhalten hatten, zeigten eine Tumorbildung am rechten parietalen Peritoneum. Fünf Tiere wiesen darüber hinaus Tumoren am Darm auf.

Insgesamt entwickelten alle untersuchten Mäuse Tumoren am rechten parietalen Peritoneum. Die uterinen Hörner sowie die Leber blieben bei allen Tieren tumorfrei.

Nachfolgendes Diagramm (Abb. 11) veranschaulicht für jede Versuchsgruppe die Verteilung der Tumorlokalisationen. Es trägt die absoluten Häufigkeiten der jeweiligen Tumorlokalisationen der einzelnen Testgruppen gegeneinander auf.

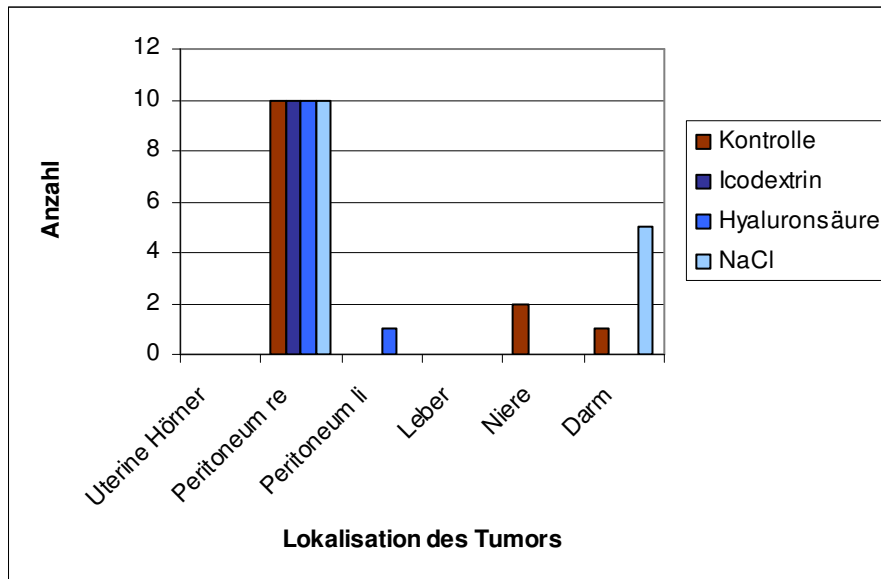


Abbildung 11: Verteilung der Tumorlokalisationen pro Versuchsgruppe im Vergleich

Die nachfolgenden drei Abbildungen veranschaulichen die Ergebnisse zum peritonealen Tumorwachstum.



Abbildung 12: Peritoneales Tumorwachstum rechts



Abbildung 13: Peritoneales Tumorwachstum und Adhäsionsstrang rechts (I)

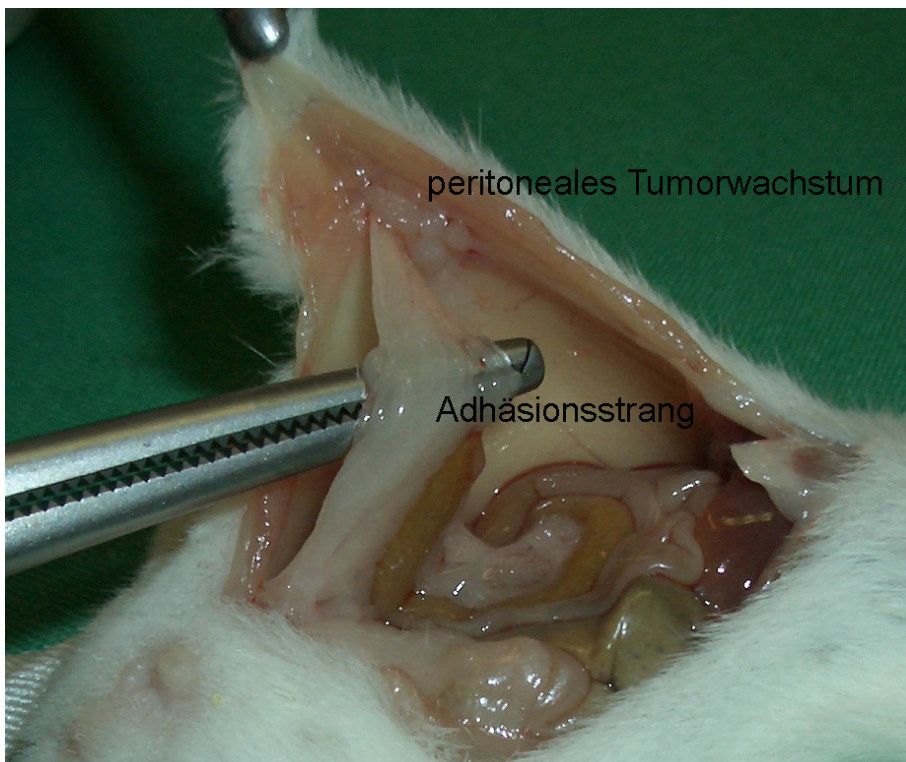


Abbildung 14: Peritoneales Tumorwachstum und Adhäsionsstrang rechts (II)

4.2.2.3 Tumorgewicht

Bei allen Versuchstieren bildete sich Tumorgewebe, das nach der Vermessung und Lokalisationsbestimmung gewogen wurde. Die schwersten Tumoren wurden in der Kontrollgruppe gefunden. Nachfolgend werden die Ergebnisse der verschiedenen Gruppen einzeln dargestellt, um eine differenziertere Betrachtung zu ermöglichen.

	Kontrolle	Icodextrin	Hyaluronsäure	NaCl-Lösung
1	0,14	0,03	0,05	0,08
2	0,49	0,14	0,015	0,1
3	0,53	0,06	0,03	0,01
4	0,4	0,01	0,03	0,06
5	0,35	0,005	0,005	0,035
6	0,22	0,17	0,06	0,1
7	0,16	0,16	0,03	0,05
8	0,33	0,1	0,06	0,04
9	0,27	0,01	0,02	0,1
10	0,25	0,03	0,03	0,025

(alle Angaben in g)

Tabelle 16: Tumorgewichte in den einzelnen Versuchsgruppen

Die Tiere der Kontrollgruppe entwickelten ein mittleres Tumorgewicht von 0,31 g, mit einem Maximum von 0,53 g und einem Minimum von 0,14 g. Tiere, die mit Hyaluronsäure behandelt worden waren, zeigten mit 0,03 g das niedrigste mittlere Tumorgewicht. Die Gewichte in den Gruppen Icodextrin und NaCl-Lösung waren mit 0,08 g und 0,06 g ebenfalls sehr klein im Vergleich zur Kontrollgruppe. Alle 30 Tiere aus den beimpften Gruppen (Icodextrin, Hyaluronsäure, NaCl-Lösung) erreichten dasselbe Minimalgewicht von 0,01 g.

Tabelle 17 gibt einen Überblick über das arithmetische Mittel, die Standardabweichung, den Medianwert, das Maximum und das Minimum jeder Versuchsgruppe.

	Mittelwert	Standard-Abweichung	Median	Maximum	Minimum
Kontrolle	0,31	0,13	0,3	0,53	0,14
Icodextrin	0,08	0,07	0,05	0,17	0,01
Hyaluronsäure	0,03	0,02	0,03	0,06	0,01
NaCl-Lösung	0,06	0,03	0,06	0,10	0,01

(alle Angaben in g)

Tabelle 17: Mittelwert, Standardabweichung, Median, Maximum und Minimum der Tumorgewichte in den einzelnen Gruppen

Nachfolgende Boxplot Darstellung (Abb. 15) stellt für jede Versuchsgruppe die Ergebnisse noch einmal graphisch dar. Sie hebt das Maximum, Minimum und den Medianwert der einzelnen Gruppen hervor.

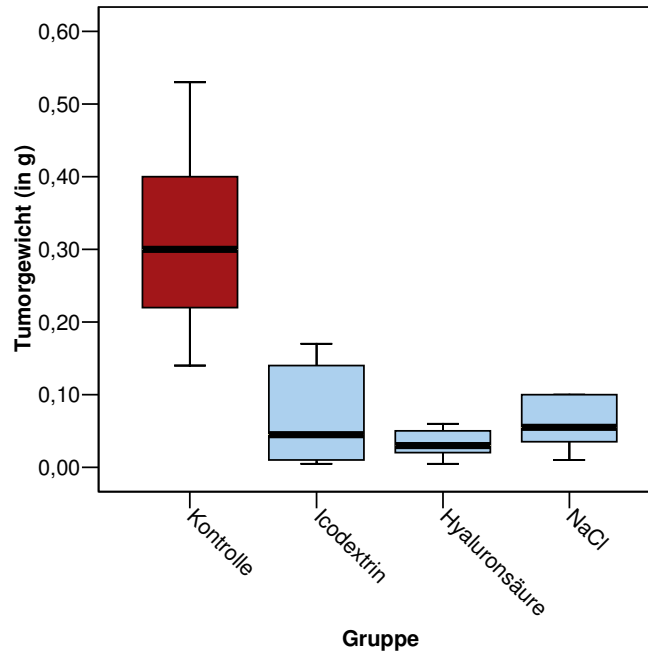


Abbildung 15: Boxplot Tumorgewicht

Die Varianzanalyse der Einfachklassifikation zeigte in allen Fällen einen signifikanten Einfluss der verschiedenen Versuchssubstanzen ($p \leq 0,001$; ANOVA). In der Kontrollreihe war das Tumorgewicht signifikant größer als das der beimpften Icodextrin-, Hyaluronsäure- und NaCl-Gruppe ($p \leq 0,001$, Tukey's Studentized Range Test). Die signifikant kleinsten Tumorgewichte wurden bei den Tieren beobachtet, die mit dem Präparat Hyaluronsäure behandelt worden waren ($p \leq 0,001$, Tukey's Studentized Range Test). Zwischen den Versuchsgruppen Icodextrin, Hyaluronsäure und NaCl-Lösung konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p \leq 0,001$, Tukey's Studentized Range Test). Die ermittelten Ergebnisse wurden mit Hilfe der Bonferoni Holm Korrektur überprüft und bestätigt.

4.2.2.4 Digitale Tumorflächenmessung

Da bei jedem Versuchstier die Bildung eines oder mehrerer Tumoren nachzuweisen war, konnten diese digital vermessen werden und die Größe ihrer Fläche bestimmt werden. Die folgende Tabelle enthält die gemessenen Flächen pro Maus.

	Kontrolle	Icodextrin	Hyaluronsäure	NaCl-Lösung
1	* 88,79	16,38	21,73	23,37
2	238,28	10,39	* 18,16	56,18
3	230,05	62,2	24,01	14,98
4	* 235,74	* 16,97	15,66	19,99
5	* 138,64	8,29	* 1,91	41,05
6	* 111,16	2,78	* 25,3	38,77
7	83,59	59,96	10,8	* 21,07
8	165,01	38,11	* 14,62	26,02
9	90,91	21,99	* 9,59	* 45,84
10	146,32	8,06	14,33	10,93

(alle Angaben in mm²); * Summe aus Einzelmessungen

Tabelle 18: Einzelmesswerte der Tumorflächen

Die Tiere der Kontrollgruppe entwickelten mit 152,85 mm² die größte mittlere Tumorfläche. Das Maximum betrug 238,28 mm², das Minimum 83,59 mm². Die ermittelten Werte der Gruppen Icodextrin, Hyaluronsäure und NaCl-Lösung lagen deutlich darunter. Der niedrigste Mittelwert wurde bei den Mäusen verzeichnet, die mit dem Präparat Hyaluronsäure behandelt worden waren (15,61 mm²). Das Maximum betrug 25,30 mm², das Minimum 1,91 mm².

Tabelle 19 fasst aus jeder Versuchsgruppe das arithmetische Mittel, die Standardabweichung, den Medianwert, das Maximum und das Minimum zusammen.

	Mittelwert	Standardabweichung	Median	Maximum	Minimum
Kontrolle	152,85	62,36	142,48	238,28	83,59
Icodextrin	24,51	21,59	16,68	62,20	2,78
Hyaluronsäure	15,61	7,13	15,14	25,30	1,91
NaCl-Lösung	29,82	14,77	24,70	56,18	10,93

(alle Angaben in mm²)

Tabelle 19: Mittelwerte und Standardabweichungen der Tumorflächen in den einzelnen Gruppen

Die Boxplot-Darstellung (Abb. 16) veranschaulicht noch einmal für jede Versuchsgruppe die Ergebnisse. Sie hebt das Maximum, Minimum und den Medianwert der einzelnen Gruppen hervor.

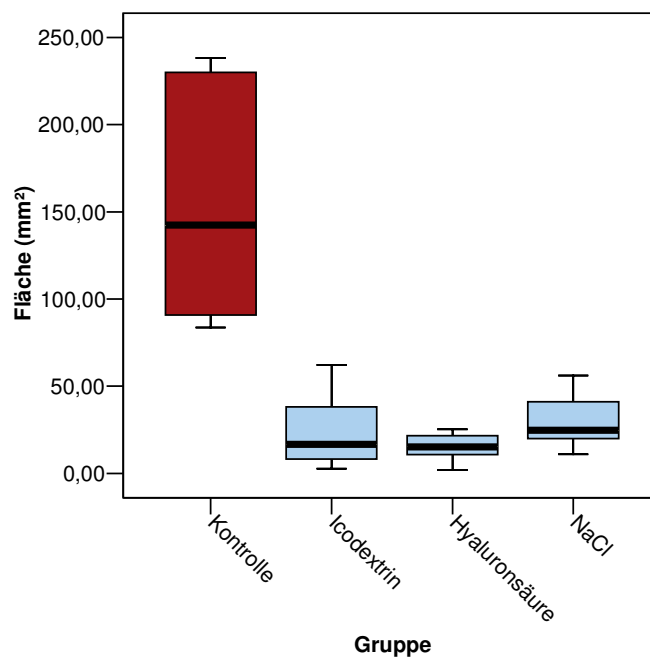


Abbildung 16: Boxplot Tumorfläche

Die Varianzanalyse der Einfachklassifikation zeigte in allen Fällen einen signifikanten Einfluss der verschiedenen Versuchssubstanzen ($p \leq 0,001$; ANOVA). In der Kontrollreihe war die Tumorfläche signifikant größer als die Flächen der Icodextrin-, Hyaluronsäure- und NaCl-Gruppe ($p \leq 0,001$, Tukey's Studentized Range Test). Die signifikant kleinsten Tumorflächen wurde bei den Tieren beobachtet, die mit Hyaluronsäure behandelt worden waren ($p \leq 0,001$, Tukey's Studentized Range Test). Zwischen den Versuchsgruppen Icodextrin, Hyaluronsäure und NaCl-Lösung konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p \leq 0,001$, Tukey's Studentized Range Test). Die ermittelten Ergebnisse wurden mit Hilfe der Bonferoni Holm Korrektur überprüft und bestätigt.

4.2.2.5 Histologie

Zur histologischen Auswertung des Tumorgewebes wurden von jeder Maus Proben entnommen und bis zur Aufbereitung in formalinhaltigen Röhrchen gelagert. Die histologischen Schnitte wurden einer Hämatoxylin-Eosin-Färbung unterzogen und mikroskopisch ausgewertet. Alle Präparate ergaben einen positiven Tumorzellnachweis im Sinne einer Peritonealkarzinose. Das Tumorwachstum zeigt im Vergleich der

unterschiedlichen Behandlungsgruppen keinen histologisch erkennbaren Unterschied. Das Tumorstadium lässt sich als solide, zum Teil papillär, überwiegend oberflächlich sowie gering infiltrativ beschreiben. Folgende histologische Bilder (Abb. 17 und 18) veranschaulichen das Tumorstadium.

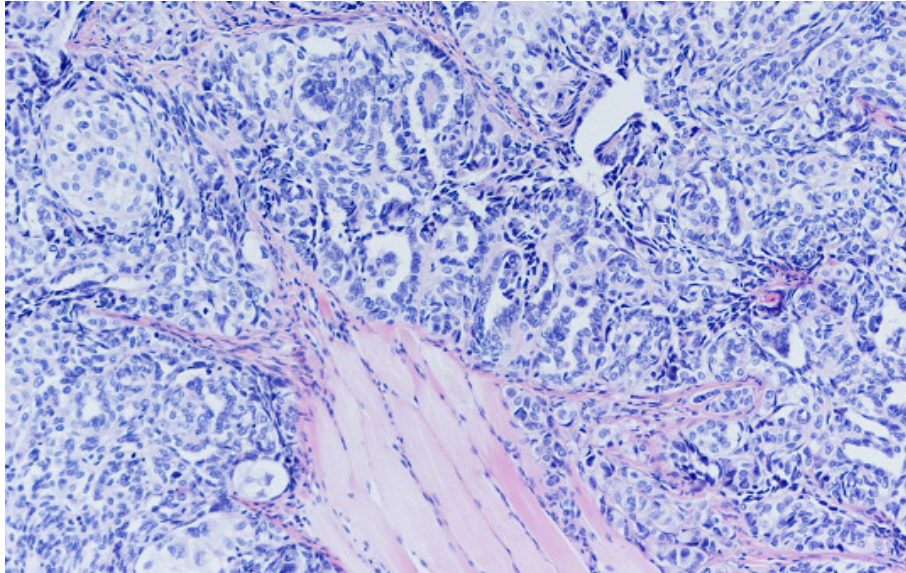


Abbildung 17: Tumorzellwachstum und Tumorzellinfiltration

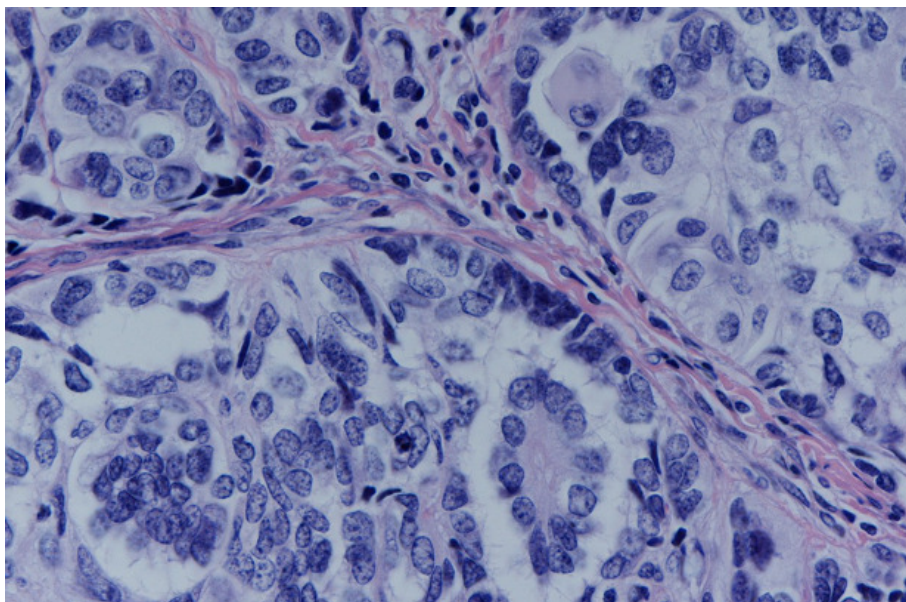


Abbildung 18: Tumorzellen

5. DISKUSSION

Die Pathogenese lokoregionärer Rezidive und peritonealer Metastasen nach der Resektion maligner, abdomineller Tumoren ist bis heute noch nicht eindeutig geklärt. Die Adhäsion und die Implantation von Tumorzellen in ehemalige Wundbereiche scheinen jedoch für das Auftreten von peritonealen Metastasen eine wichtige Rolle zu spielen. So wird in verschiedenen Forschungsberichten auf Parallelen zwischen der Pathogenese von postoperativer Adhäsionsbildung und der Nidation von Tumorzellen hingewiesen (Lee et al., 1994; Jacobi et al., 1997; van den Tol et al., 1998). Die in der Literatur exponierten Forschungsparadigmen über das Gebiet der Adhäsionsprophylaxe sind zum Teil recht ergiebig; sie richten ihren Fokus in jüngster Zeit auf die empirische Überprüfung von physikalischen Barrieremethoden (wie Adept[®] und Hyalobarrier[®]-Gel), der Gruppe der derzeit meist versprechenden Adhäsionsprophylaktika. Sämtliche Studien beschränken sich jedoch auf die isolierte Erprobung der adhäsionspräventiven Wirkweise dieser Barrieremethoden. Experimentelle Untersuchungen zur Verringerung der Tumorzelladhäsion durch diese Produkte existieren indes in geringem Maße. Die Datenlage ist auf diesem Gebiet noch unzureichend, die Untersuchungsmodelle im Hinblick auf die Wahl der Versuchstiere und des experimentellen Designs zu disparat und die Ergebnisse vielfach inkongruent, um allgemeingültige Aussagen formulieren zu können.

So wurde in der vorliegenden tierexperimentellen Arbeit ein Therapieansatz zur Vermeidung von Adhäsionsbildung und Tumorzellnidation bei der Operation von Ovarialkarzinomen erprobt. Icodextrin (Adept[®]), Hyaluronsäure (Hyalobarrier[®]-Gel) und physiologische NaCl-Lösung wurden hier im Vergleich evaluiert.

5.1 Tiermodell

Alle Versuche wurden an weiblichen, immundefizienten Mäusen vom SCID-Typ NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J durchgeführt. SCID ist das Akronym für den Begriff "severe combined immunodeficiency" (schwere kombinierte Immundefizienz). Die Besonderheit der SCID-Mäuse liegt darin, dass sie durch einen Mangel an Adenosindeaminase weder T- noch B-Lymphozyten ausbilden. Zudem ist bei ihnen die Aktivität der "Natural-Killer"-Zellen gestört. Die Mäuse werden mit Hilfe

molekulargenetischer Methoden gezüchtet, ihnen fehlen bestimmte Gene und deshalb erkranken sie an dem Immundefekt. Zu den ausgeschalteten Genen gehört etwa das Gen für einen Teil des Interleukin-2-Rezeptors. SCID-Mäuse sind bewährte Versuchstiere. Sie fungieren als etabliertes Tiermodell, um menschliche Tumoren zu erforschen. Die Applikation von Tumorzellen führt bei ihnen zur Ausbildung von Karzinomen, denn diese werden von den immungeschwächten Tieren nicht abgestoßen.

Ogleich diverse Studien an Mäusen, Ratten und Kaninchen im Vergleich zeigen, dass die peritonealen Verhältnisse der Maus dem Menschen am wenigsten ähneln (Flessner und Lofthouse, 1999; Flessner et al., 2000; Conroy et al., 2003), ist die Wahl einer immundefizienten Maus in der vorliegenden Studie sinnvoll. Durch das fehlende Immunsystem wird das gewünschte Tumorstadium gewährleistet und dadurch die experimentelle Grundlage zur Adhäsions- und Nidationsprophylaxe geschaffen.

5.2 Tumormodell

Die intraperitoneale Applikation von Tumorzellen stellt ein weit verbreitetes Verfahren dar, das in der einschlägigen Literatur immer wieder beschrieben worden ist (Sikkink et al., 2004; Rocconi et al., 2006). In der vorliegenden experimentellen Studie wurden den Versuchsmäusen intraperitoneal humane ovariale epitheliale Tumorzellen der Zelllinie SCOV3.ip implantiert. Diese Zelllinie ist eine Subklasse der SCOV3-Zellen. Ihr metastatisches Potential ist höher als das der Mutterzelllinie (Bai et al., 2006). Beide Tumorzelllinien führen zur Ausbildung eines fortgeschrittenen epithelialen Ovarialkarzinoms im Sinne einer Peritonealkarzinose. Die Applikation dieser Zelllinien erfolgte bereits mehrfach in Studien mit dem Ziel, Ovarialkarzinome zu induzieren (Mahasreshti et al., 2003; Leath et al., 2004; Bai et al., 2006). Rocconi und seine Mitarbeiter erzeugten beispielsweise bei Nacktmäusen ein Ovarialkarzinom mithilfe von SCOV3.ip-Zellen, um den Effekt von Icodextrin auf eine neue intraperitoneale Therapieform bei dieser Tumorerkrankung zu evaluieren (Rocconi et al., 2006).

5.3 Adhäsionsmodell

Das Setzen von (intra)peritonealen Traumata definierter Größe als Grundlage für die Ausbildung von postoperativen Adhäsionen stellt in tierexperimentellen Studien zur Adhäsionsprophylaxe eine etablierte Methode dar (Schneider et al., 2006). Müller et al. beschreiben die Induktion von Adhäsionsbildungen durch Abradierung des peritonealen und viszeralen Peritoneums an Kaninchen (Müller et al., 2003 [b]). In einer anderen Studie am gleichen Tiermodell wird die Traumatisierung von Zäkum und Darm dargestellt (Verco et al., 2000). Die Arbeitsgruppe von van Westreenen dokumentiert einen anderen Weg, Adhäsionsbildung zu induzieren. Sie band die uterinen Hörner der Ratte am lateralen Peritoneum fest und erzeugte durch die Ischämie eine Grundlage für Adhäsionsbildungen (van Westreenen et al., 1999). Für die hier vorliegende Arbeit wurde eine modifizierte Verfahrensvariante gewählt. In der Untersuchung wurden den Mäusen oberflächliche peritoneale Traumata an der rechten lateralen Bauchwand mittels Skalpell zugefügt, um Tumorwachstum und Adhäsionen an dieser Stelle zu erzeugen.

5.4 Versuchsdurchführung

5.4.1 Pilotstudie

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, die Substanzen Icodextrin (Adept[®]), Hyaluronsäure (Hyalobarrier[®]-Gel) und physiologische NaCl-Lösung auf ihre Fähigkeit zur Adhäsions- und Nidationsprophylaxe bei der Operation von Ovarialkarzinomen zu prüfen. Das Präparat Adept[®] (Icodextrin in 4%iger Form) musste dabei in einer vorangehenden Pilotstudie auf seine Eignung in dem gewählten Tiermodell untersucht werden.

Icodextrin ist aufgrund seiner polymeren Struktur amylyaseabhängig. Die α -1,4-Bindungen der Glukoseeinheiten des Dextrins sind Substrat für das Enzym Amylyase. Im Gegensatz zur menschlichen Peritonealhöhle (Davies, 1994) weisen die Mäuse aus dem hier verwendeten Tiermodell eine Tätigkeit dieses Enzyms in ihrem Peritonealraum auf. Um sicher zu gehen, dass das Icodextrin nicht vorzeitig durch die Amylyase abgebaut wird, sollte der Vorversuch klären, ob in dem für die Adhäsionen wichtigen Zeitfenster

von 0 Stunden bis 7 Tagen ein relevanter Wirkspiegel des Icodextrins aufrechterhalten werden konnte. Vierzehn Tage nach der intraperitonealen Icodextrininjektion wurde der aktive Wirkspiegel des Icodextrins mittels Peritoneallavage und Immunassay bestimmt. Dazu wurde die polymere Struktur des Icodextrins ausgenutzt: Das Enzym Amyloglukosidase (ein Isolat des *Aspergillus niger*) besitzt die Fähigkeit, eine Hydrolyse der α -1,4-Glucose-Verbindungen zu bewirken. Die Inkubation der Lavageproben mit einem Amyloglukosidase-Standardmedium führte deshalb zur Aufspaltung der Glucosepolymere zu Glucose Grundeinheiten. Diese Glucosemoleküle konnten mit einem Analysegerät quantitativ erfasst werden. Dieses Immunassay ist etabliert und bislang in vielen klinischen Studien der Baxter Healthcare Cooperation (Deerfield IL, USA) angewandt worden (Wang et al., 2002).

5.4.2 Hauptstudie

Das kombinierte experimentelle Vorgehen aus Induktion von Adhäsionen durch gezieltes Setzen peritonealer Traumata bei gleichzeitiger Erzeugung von Tumorimplantation an diesen Stellen, wie es in der vorliegenden Arbeit dokumentiert wird, ist in der Literatur noch wenig beschrieben worden. In der aktuellen Forschung finden sich bislang überwiegend Studien, die entweder nur die Wirkung einer Substanz zur Adhäsionsprophylaxe fokussieren oder deren Möglichkeit zur Prophylaxe einer Tumorzelladhäsion beschreiben. Dabei werden lediglich einzelne Parameter für die Auswertung erfasst. Das Studiendesign der vorliegenden Untersuchung ist unter diesen Gesichtspunkten neu, da an einem Modell parallel zwei Aspekte – Adhäsions- und Nidationsprophylaxe – untersucht werden können. Zudem werden die Befunde mithilfe mehrerer Parameter beschrieben (Adhäsionscore und Lokalisation der Adhäsion, Tumorscore und Lokalisation, Tumorfläche, Gewicht und Histologie). Dies ermöglicht eine differenziertere Auswertung der Ergebnisse.

Experimente zur reinen Adhäsionsprophylaxe sind in der Literatur bereits in diversen Formen dargestellt worden. Darunter finden sich sowohl Untersuchungen an verschiedenen Tiermodellen (Maus, Ratte, Kaninchen) als auch klinische Studien an Patienten. Hellebreekers et al. (2000) untersuchten das Verhalten fünf verschiedener Barrierematerialien hinsichtlich der Bildung von postoperativen Adhäsionen an Ratten. Dabei wertete er makroskopisch das Ausmaß der Adhäsion und den Verwachsungstyp

aus. Roman et al. (2005) beschreiben zusätzlich die Evaluierung der Adhäsionsstärke. Andere Arbeitsgruppen nutzten zur Auswertung ihrer Ergebnisse die Adhäsionsscore-Methode nach der American Fertility Society (1988) (Thornton et al., 1998; diZerega et al., 2002).

Studien zur Tumoradhäsionsprophylaxe existieren nur in geringem Maße und beschränken sich ebenfalls auf die Auswertung einzelner Parameter. Sikkink und seine Mitarbeiter (2004) beschreiben die Bildung eines Kolon-Karzinoms bei Mäusen anhand des peritonealen Tumor-Index nach Steller et al. (1988) und wogen das gewonnene Tumormaterial aus. Ten Raa et al. (2005) bestimmten in ihrem Rattenmodell die Tumorbildung an verschiedenen peritonealen Orten und zählten die Anzahl der Tumorknoten aus. In einer anderen Studie an Ratten erfolgte die Auswertung lediglich durch Ermittlung des Tumorgewichtes (Jacobi et al., 1999).

5.4.2.1 Adhäsionen

In dieser Studie wurde die Adhäsionsbildung mithilfe eines Scores und eines Lokalisationsschemas ausgewertet. Die Charakterisierung der Adhäsion durch Zuweisung von Scores ist in der Literatur mehrfach beschrieben worden. Abhängig von der Wahl des Studiendesigns, gleichviel ob klinisch oder tierexperimentell (Kaninchen, Ratte, Maus), unterscheiden sich die Auswertungsschemata in ihren Inhalten. Ihre Struktur ist aber prinzipiell vergleichbar. Stets werden Eigenschaften von Adhäsionen einem Score zwischen 0 und 4 zugeordnet. In der vorliegenden Arbeit wurde zur Beschreibung der Adhäsionsstärke die Klassifikation nach Zühlke et al. (1990) gewählt. Dieses Schema verwendete bereits die Arbeitsgruppe um van den Tol, um bei Ratten die Stärke der Adhäsionsbildung makroskopisch zu klassifizieren (van den Tol et al., 2001 und 2005). Auch Sikkink et al. (2004) nutzten dieses Schema zur qualitativen Auswertung der Adhäsionsbildung bei Ratten. Peck et al. (1995) entwickelten einen ähnlichen Adhäsionsscore, bei dem allerdings die Spannweite zwischen 0 und 3 lag. Das Ausmaß der Adhäsionsbildung wurde bei Modellen an der Ratte meist quantitativ mithilfe von Segmentcores ermittelt (van Westreenen et al., 1999; Hellebrekers et al., 2000; van den Tol et al., 2001; Sikkink et al., 2004; van den Tol et al., 2005). Hierzu wurde das gesamte Peritoneum in 8 Segmente à 12,5% Fläche eingeteilt. Bei Präsenz einer Adhäsion in einem Segment wurde das Ausmaß der Adhäsion mit 12,5%

gewertet; als Maximalwert konnte 100% erreicht werden. Aufgrund der Wahl eines kleineren Versuchstieres (der Maus) in der vorliegenden Studie wurde zur weiteren Charakterisierung der Adhäsionsbildung auf letzteres Verfahren verzichtet. Dafür wurde die Lokalisation der jeweiligen Adhäsion mithilfe eines festen Schemas erfasst. Die Erstellung der Klassifikation erfolgte anhand der Angaben der Arbeitsgruppe von van den Tol et al. (2005).

5.4.2.2 Tumor

Die kombinierte Auswertung des Tumorwachstums durch die Parameter Tumorscore und Lokalisation sowie Fläche, Gewicht und Histologie ist in dieser Form neu und in keiner vorhergehenden Studie beschrieben worden. Gerade sie ermöglicht aber eine detaillierte Dokumentation des Tumorgewebes und damit des Ausmaßes der Peritonealkarzinose. In der Literatur werden lediglich einzelne Parameter, wie zum Beispiel Tumorscore oder Tumorlokalisierung für die Auswertung berücksichtigt (Jacobi, 1999; Sikkink et al., 2004; Ten Raa et al., 2005).

Die vorliegende Studie beschreibt die Größe des Tumors durch Zuweisung eines Scores. Die entsprechende Werteskala basiert auf dem peritonealen Tumorindex nach Steller et al. (1988). Ähnliche Tumormodelle an Ratten und Mäusen beschreiben dieses Schema ebenfalls in ihrer Auswertung (van den Tol et al., 2001; Sikkink et al., 2004; van den Tol et al., 2005). Durch Wahl des Mausmodells in dieser Arbeit wurde das Werteschema entsprechend der kleineren Größenverhältnisse modifiziert und optimiert. Bei der Lokalisation des Tumorgewebes konnte auf Verfahren anderer Studien recurriert werden. Diese wurde in Analogie zur Bestimmung der Adhäsionslokalisierung mithilfe des Schemas nach van den Tol et al. (2001 und 2005) erfasst.

Die Bestimmung des Tumorgewichts wurde ebenfalls von anderen Arbeitsgruppen zur Beschreibung des Tumors gewählt (Pucciarelli et al., 2003; Jacobi, 1999).

5.5 Versuchsmaterialien

Die Forschung hat in den letzten Jahren die Entwicklung von neuen Substanzen zur Adhäsionsprophylaxe entschieden vorangetrieben. Allen voran stehen die

Barriereprodukte, eine Substanzgruppe, welche in der kritischen Phase den Kontakt traumatisierter Oberflächen vermeidet, die Ausbildung von Fibrinbrücken unterbindet und damit der Adhäsionsbildung entgegenwirkt. Icodextrin (Adept®) und Hyaluronsäure (Hyalobarrier®-Gel) gehören zu dieser Klasse von Antiadhäsiva. Ihre Wirksamkeit wurde, wie die folgenden Ausführungen dokumentieren, bereits erfolgreich getestet. Auch Ergebnisse der vorliegenden Studie konnten die Effektivität der Barriereprodukte bestätigen.

5.5.1 Icodextrin

Seit kurzem ist zur Adhäsionsprophylaxe eine nicht-visköse Flüssigkeitsbarriere in 4%iger Icodextrinkonzentration (Handelsname Adept®) verfügbar. Dieses Barriereprodukt, welches durch Hydroflotation eine Trennung der verletzten peritonealen Oberflächen ermöglicht, wird aufgrund seiner polymeren Struktur nur sehr langsam aus dem Peritonealraum resorbiert und zu Oligosacchariden metabolisiert. Innerhalb der kritischen fünf- bis siebentägigen Phase von Adhäsionsbildungen bleibt deshalb ein intraperitonealer Wirkstoffspiegel von Icodextrin erhalten (diZerega et Rodgers, 1992; Harris et al., 1995; Gilbert et al., 1999). Nach vier Tagen kann noch mehr als 50% der Flüssigkeit im Bauchraum nachgewiesen werden. Die Effektivität von Icodextrin zur Adhäsionsreduktion ist bereits in mehreren Studien überprüft und nachgewiesen worden: In Standard-Tiermodellen am Uterushorn und der Abdominalwand an Kaninchen konnte gezeigt werden, dass Icodextrin die Inzidenz, das Ausmaß und den Schweregrad von Adhäsionen signifikant senkt (Verco et al., 2000; diZerega et al., 2002). Auch Müller et al. (2003 [b]) überprüften in einer Studie an Kaninchen die Wirksamkeit von Icodextrin. Durch Abrasion definierter Areale der ventralen Bauchwand, des Zäkums und des Ileums induzierten sie Verwachsungsbildung und beimpften die Tiere anschließend mit Icodextrin. Sie konnten nachweisen, dass die Adhäsionsbildung in der Icodextrin-Gruppe signifikant niedriger war im Vergleich zur Kontrollgruppe. Roman und seine Mitarbeiter (2005) untersuchten die Wirkung von Icodextrin an einem Rattenmodell. Durch bipolare Koagulation induzierten sie peritoneale Traumata definierter Größe und beimpften die Tiere anschließend mit der 4%igen Icodextrinlösung. Auch ihre Ergebnisse

demonstrieren, dass die mit Icodextrin beimpften Tiere weniger Adhäsionsbildung im Vergleich zur Ringerlaktat-Gruppe aufwiesen. Vergleichbare Resultate liefern die tierexperimentellen Studien von Conroy et al. (2003) sowie Rodgers et al. (2003). Die 4%ige Icodextrinlösung erwies sich als signifikant effektiver in der Reduktion von Adhäsionsformation im Vergleich zur Kontrollgruppe mit Ringerlaktat-Lösung. Eine randomisierte, kontrollierte Pilotstudie bestätigte diese Ergebnisse (diZerega et al., 2002). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden diese Resultate erhärtet. Sowohl die Adhäsionsbildung als auch die Tumornidation konnten im Vergleich zur Kontrollgruppe gesenkt werden (vgl. Ausführungen unter 5.6.1 und 5.6.2). Kontrastive Daten liefert jedoch eine Arbeit von Müller et al. aus dem Jahr 2003 [a]. In einem Peritonitis-Modell erprobte er mit seinen Mitarbeitern den adhäsionsprophylaktischen Effekt von Icodextrin versus Phospholipiden an Ratten. Die Ergebnisse zeigten, dass in der Phospholipid-Gruppe die Adhäsionsbildung signifikant reduziert wurde. Icodextrin lieferte demgegenüber schlechtere Resultate. Die Entstehung von Verwachsungen wurde durch dieses Barriereprodukt gefördert und es kam zu vermehrter Abszessbildung. Derartige Ergebnisse lassen vermuten, dass Icodextrin im Rahmen einer präsenten Peritonitis potentiell infektiönsbegünstigend sein kann und deshalb unter derartigen Bedingungen nicht verwendet werden sollte.

5.5.2 Hyaluronsäure

Hyaluronsäure stellt eine natürliche, polymere Komponente der Extrazellulärmatrix dar und kommt in vielen menschlichen Organen vor. Sie konnte in modifizierter Form bereits erfolgreich im klinischen Alltag zur Reduzierung postoperativer Adhäsionen nach abdomino-pelvinen Interventionen eingesetzt werden (Becker et al., 1996; Johns et al., 2001; Miller et al., 2003). Das mehrfach anionische Polysaccharid fungiert als physikalisches Barriereprodukt. Nach intraperitonealer Instillation erzeugt es eine Hydroflotation der intraabdominellen Strukturen und bewirkt dadurch eine Separation der verletzten peritonealen Oberflächen (Reijnen et al., 2001). Sein Einsatz ist bei Anwesenheit intraperitonealer Infektionen jedoch limitiert (Ghellai et al., 2000). Zur Umgehung derartiger Einschränkungen ist die Hyaluronsäure in ihrer Struktur mehrfach modifiziert und durch Verknüpfung mit anderen Molekülen für ihren Einsatz als Antiadhäsivum optimiert worden. Zu diesen Hyaluronsäurederivaten zählt neben der

bioresorbierbaren Carboxymethylzellulose-Membran Seprafilm™ das Hyalobarrier®-Gel, ein quervernetztes Polysaccharid. Die Modifikation am Molekül bewirkt im Vergleich zur nicht veränderten Hyaluronsäure beim Hyalobarrier®-Gel eine höhere Adhäsivität und führt zu einer längeren Verweildauer der Substanz auf verletzten Oberflächen. Der Vorteil besteht in der höheren Viskosität des Gels (Mensitieri et al., 1996); diese Eigenschaft vereinfacht und präzisiert die Applikation. Erste präklinische Studien haben bereits erfolgreich nachweisen können, dass Hyalobarrier®-Gel die Inzidenz und Schwere von Adhäsionsbildung signifikant reduziert (De Iaco et al., 2003; Marchino et al., 2003; Aytakin et al., 2004). Die vorliegende Studie liefert hierzu vergleichbare Ergebnisse und bestätigt die Angaben der Literatur (vgl. 5.6.1).

Die positiven Erfahrungen aus der Forschung haben bereits zu ersten Untersuchungen an Tumormodellen geführt. Unter der Fragestellung, ob Hyaluronsäurederivate auch die Nidation und das Wachstum von Tumorzellen einzuschränken vermögen, wurden verschiedene intraabdominelle Tumormodelle erprobt (Haverlag et al., 1999; Underwood et al., 1999; Tan et al., 2001; Hubbard und Burns, 2002). Einige Ergebnisse tierexperimenteller Studien zeigten jedoch keinen nidationsprophylaktischen Effekt von Hyaluronsäure. Sie weisen gar auf proliferative Eigenschaften der Substanz hin. So erbrachte beispielsweise eine Untersuchung an einem Ratten-Uterusabrasionsmodell stärkere Tumorbildung in der Hyaluronsäure-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (Sikkink et al., 2004). In-vitro-Studien untermauern diese Resultate (Tan et al., 2001; Hubbard und Burns, 2002). Die vorliegende Arbeit liefert hierzu allerdings kontrastive Ergebnisse (vgl. 5.6.2).

5.5.3 Physiologische NaCl-Lösung

Die physiologische NaCl-Lösung gehört gemeinsam mit den Ringer- und Ringerlaktatlösungen zur Gruppe der kristalloiden Flüssigkeiten. Diese sind im klinischen Alltag weit verbreitet und werden dort zur Erzeugung eines künstlichen Aszites intra/postoperativ appliziert (Wiseman et al., 1998). Obwohl ihre adhäsionspräventive Wirksamkeit bisher durch keine kontrollierten, randomisierten Studien überprüft wurde, zählt diese Behandlungsweise zur derzeit am häufigsten praktizierten Methode. Dies ist sowohl auf die einfache Handhabung und Applikation,

schnelle und kostengünstige Verfügbarkeit sowie gute Verteilung der Flüssigkeit im Abdomen zurückzuführen (Wiseman et al., 1998). Kritisch wird jedoch immer wieder akzentuiert, dass diese Lösungen zu rapide aus dem Abdomen resorbiert werden und eine suffiziente Aktivität somit gar nicht erfolgen kann (Shear et al., 1965; Sites et al., 1997).

In der Literatur werden derzeit nur Studien beschrieben, die kristalloide Lösungen als Vergleichs- bzw. Kontrollsubstanz heranziehen (Verco et al., 2000; Rodgers et al., 2003). Obwohl einige tierexperimentelle Arbeiten belegen, dass Barrieremethoden nicht unbedingt effektiver als kristalloide Instillate wirken (Grosz et al., 1966; Cohen et al., 1983; Cabarello und Tulandi, 1992; Pagidas und Tulandi, 1992), fehlen weiterführende Primärstudien in der Literatur. Die Erprobung von physiologischer NaCl-Lösung unter dem Aspekt einer Versuchs- anstatt Kontrollsubstanz ist somit in dieser Arbeit neu und in dieser Form noch nicht beschrieben worden. Ihre Wirkung auf Tumorwachstum und Tumoradhäsion wurde in keiner vorherigen Studie untersucht.

5.6 Analyse der Ergebnisse

5.6.1 Adhäsionsprophylaxe

Um die Bedeutung der Ergebnisse der einzelnen Testsubstanzen diskutieren zu können, stellten in der vorliegenden Arbeit die unbeimpften 10 Tiere die Referenzgruppe dar. Viele in der Literatur beschriebenen tierexperimentellen Studien etablierten dieses Design (Müller et al., 2002; Pucciarelli et al., 2003; Menderes et al., 2004; van den Tol et al., 2005) und bezogen sich in der Analyse der Versuchsgruppen vergleichend auf die unbehandelte Kontrollgruppe. Der Gruppenvergleich der vorliegenden Arbeit erbrachte signifikante Unterschiede. Die Mäuse der unbeimpften Kontrollgruppe bildeten die stärksten Adhäsionen aus. Der mediane Adhäsionsscore lag bei 3. In der mit Hyaluronsäure behandelten Versuchsgruppe konnten die Adhäsionen zu allen anderen Vergleichsgruppen am stärksten reduziert werden. 90% der Tiere wiesen hier keine Adhäsionsbildung auf, der Median der Adhäsionsscores wurde mit 0 ermittelt. Vergleichsergebnisse waren bislang auf diesem hohen Niveau in der Literatur nicht zu finden. De Iaco et al. (2003) konnten in einer Patientenstudie zwar zeigen, dass die Inzidenz der adhäsionsfreien Patienten nach Behandlung mit Hyaluronsäure bei 72,2%

(Kontrollgruppe 68,2%) lag, diese Ergebnisse decken sich zahlenmäßig jedoch nicht mit denen der vorliegenden Studie (90%). Umgekehrt belegen die Resultate unserer Studie einmal mehr, dass die Stärke und das Ausmaß der Adhäsionsbildung durch Hyaluronsäure gesenkt werden können (Acunzo et al., 2003; Marchino et al., 2003). In methodologischer Hinsicht sollte aber erwähnt werden, dass die Vergleichbarkeit von Studien, die nicht nach demselben Design und Protokoll sowie an der gleichen Anzahl von Probanden durchgeführt werden, als kritisch zu betrachten ist.

In der Icodextrin-Gruppe wurde ebenfalls eine signifikante Reduktion der Adhäsionsbildung im Vergleich zur Kontrollgruppe beobachtet. Dieses Ergebnis deckt sich mit den bisherigen Daten aus der Literatur (Verco et al., 2000; Müller et al., 2003 [b]; Roman et al., 2005; van den Tol et al., 2005). Der mittlere Adhäsionsscore betrug hier 1 („leichte“ Adhäsion). Dieser Wert entspricht den bei van den Tol et al. (2005) gewonnenen Werten an Ratten. Auch seine Arbeitsgruppe benutzte zur Evaluation der Adhäsionsstärke die Zühlke-Klassifikation (1990) und konnte in der Icodextrin-Gruppe einen mittleren Adhäsionsscore von 1 ermitteln. Andere Arbeitsgruppen kamen in ihren Studien zu entsprechenden Resultaten (Conroy et al., 2003; Roman et al., 2005).

Die Adhäsionsbildung in der NaCl-Gruppe war im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe verringert. Der mediane Adhäsionsscore lag hier bei 2 (Kontrolle 3). Obwohl die statistische Analyse keinen signifikanten Unterschied hervorbrachte, ist dieses Ergebnis doch beachtlich. In der Literatur wurden bis dato keine positiven Effekte von kristalloiden Lösungen auf Adhäsionsreduktion beschrieben (Yaacobi et al., 1991; Harris et al., 1995; Wiseman et al., 1998; Hellebrekers et al., 2000). Das Resultat sollte aber keineswegs überbewertet werden, da aufgrund der Wahl einer relativ kleinen Testgruppe von 10 Versuchstieren die statistische Aussagekraft nur sehr schwach ist.

Beim Vergleich der Lokalisationen der Adhäsionsbildung zeigten sich deutliche Unterschiede zur Kontrollgruppe. Während in der Referenzgruppe alle Mäuse Verwachsungen am rechten parietalen Peritoneum aufwiesen, konnte bei keinem der Tiere aus den beimpften Gruppen dort Adhäsionsbildung gefunden werden. Die Adhäsionen der Icodextrin- und NaCl-Gruppe traten vermehrt an den uterinen Hörnern auf.

Diese Ergebnisse können indes nur schwerlich mit den Daten aus der Literatur verglichen werden, da die Studiendesigns (Tiermodell, experimentelles Design) zu unterschiedlich sind. Trotzdem ist ein Ansatz möglich. Van den Tol et al. (2005) setzten in ihrer Untersuchung an Ratten ebenfalls peritoneale Verletzungen und beimpften die

Tiere mit einer Icodextrinlösung. Adhäsionen fanden sich dort nur am pelvinen Fettgewebe, andere Bereiche waren nicht betroffen. Es ist zu vermuten, dass icodextrinhaltige Lösungen (hier Adept[®]) die Entstehung von Adhäsionen an der Stelle des Traumas unterbinden. Dieser Effekt würde die Funktion des Icodextrins als Barriermethode bestätigen. Auch Hyaluronsäure und physiologische NaCl-Lösung fungieren als Barriersubstanzen. Die mit diesen Mitteln beimpften Mäuse zeigten ebenfalls keine Adhäsionsbildung am Ort des peritonealen Traumas. Ihr Wirkmechanismus wäre damit ebenso belegt.

Aus welchem Grunde die Adhäsion bei der einzigen von Verwachsungen betroffenen Versuchsmaus der Hyaluronsäure-Gruppe am Darm lokalisiert war, ist fraglich. Da in der Literatur Daten zur Bestimmung von Adhäsionslokalisationen bei dieser Substanz gänzlich fehlen, gibt es hierzu noch keine Erklärung.

5.6.2 Nidationsprophylaxe

Eine Vielzahl von experimentellen Studien konnte bereits erfolgreich demonstrieren, dass der peritoneale Heilungsmechanismus nach chirurgischem Trauma nicht nur die Bildung von Adhäsionen, sondern auch die Ausbildung von Tumormetastasen fördert (Weese et al., 1986; Eggermont et al., 1987; Murthy et al., 1989; Lee et al., 1994; Jacobi et al., 1997; van den Tol et al., 1998). Während des Heilungsprozesses der peritonealen Defektstellen produzieren die inflammatorischen Zellen und Mesothelzellen eine große Anzahl von Zytokinen und Wachstumsfaktoren, die nachweislich einen positiven Einfluss auf die Nidation und das Wachstum von Tumorzellen haben (Baker et al., 1989; Gutman und Fidler, 1995; Hofer et al., 1999). Dabei scheint das metastatische Potential bei der Implantation von Tumorzellen auf geschädigte Gewebeoberflächen stärker als bei Implantation auf intakte Gewebeoberflächen zu sein (Sugarbaker, 1991). In Tumormodellen an Ratten konnte eine signifikante Korrelation zwischen der Stärke des chirurgischen Traumas am Peritoneum und des Grades der Tumorzelladhäsion gezeigt werden (Jacobi et al., 1997; van den Tol et al., 1998).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit decken sich mit diesen Daten. Bei allen 40 Versuchsmäusen wurden Tumoren auf der Seite des chirurgischen Traumas (rechte laterale Bauchwand) gefunden. Im Vergleich zu anderen Lokalisationsstellen waren

diese dort am stärksten ausgeprägt. Vergleichbare Studien bestätigen diesen Sachverhalt (van den Tol et al., 1998; Hofer et al., 1998, Ten Raa et al., 2005).

Die signifikant größten Tumoren wurden bei den Mäusen der unbehandelten Kontrollgruppe gefunden. Ihr mittlerer Tumorscore betrug 3 (Tumordurchmesser größer als 0,5 cm). Durch Applikation der jeweiligen Versuchssubstanzen (Icodextrin, Hyaluronsäure und physiologische NaCl-Lösung) konnte das Auftreten von tumorösem Gewebe verringert werden.

Bei den mit Hyaluronsäure beimpften Tieren war die Bildung von Tumoren im Vergleich zu allen anderen Testgruppen am geringsten ausgeprägt. Der mittlere Tumorscore wurde mit 1 ermittelt (Tumordurchmesser kleiner als 0,2 cm). Entsprechend verhielten sich die Ergebnisse der Gewichtsbestimmung und digitalen Flächenmessung. Diese Werte waren ebenfalls im Gruppenvergleich signifikant am geringsten. Die vorliegenden Resultate decken sich mit keinen bisherigen Studienergebnissen. In zwei ähnlichen Untersuchungen wurden Versuchsmäusen Tumorzellen implantiert und das Tumorwachstum nach der Applikation von Hyaluronsäurederivaten evaluiert (Pucciarelli et al., 2003; Sikkink et al., 2004). Beide Studien konnten jedoch keine Reduktion des Tumorwachstums nachweisen. Erhobene Daten von Tan et al. (2001) sowie Hubbard und Burns (2002) zeigen noch schlechtere Resultate. Tan und seine Mitarbeiter berichten, dass Hyaluronsäure die Motilität und Proliferation von Tumorzellen signifikant fördert. Erklärt wurden diese Resultate meist mit der Theorie der Interaktionen zwischen Hyaluronsäure und der Expression des Faktors CD-44, einem für Adhäsionen relevanten Molekül, welches bei Ovarialkarzinomen in hoher Konzentration exprimiert wird. Unsere Ergebnisse können diese Annahme jedoch nicht bestätigen. Die widersprüchlichen Befunde lassen sich wahrscheinlich auf die Variabilität der experimentellen Designs zurückführen. Die Realisierung des Versuches mithilfe verschiedener Hyaluronsäurederivate und Tumorzelllinien sowie deren Anwendung an unterschiedlichen Tierspezies könnte eine Erklärung dafür sein.

Die Tiere aus der Icodextrin-Gruppe zeigten ebenfalls im Vergleich zur Referenzgruppe verringerte Tumorbildung. Der mediane Tumorscore ergab den Wert 1,5. Das Tumorgewicht und die digital ausgemessenen Tumorflächen verringerten sich gleichermaßen zur Referenzgruppe. Diese Daten sind neu und konnten durch keine vorhergehende Studie bestätigt werden. Van den Tol et al. (2005), die als erste ein Tiermodell zur kombinierten Untersuchung von Icodextrin auf sein

adhäsionsprophylaktisches Potential sowie diesen Effekt auf Tumormetastasierung evaluierten, erzielten dieses Resultat nicht: 30 Ratten wurden peritoneale Verletzungen gesetzt; sie erhielten entsprechend ihrer Gruppenzugehörigkeit Icodextrin in 7,5%iger Konzentration, eine Placebosubstanz oder kein Produkt. Van den Tol und seine Mitarbeiter erzielten Tumorwachstum durch intraperitoneale Injektion von Kolonkarzinomzellen. Ihre Ergebnisse zur Adhäsionsprophylaxe bestätigten zwar vorhergehende Studien, da Icodextrin das Ausmaß und die Schwere der Adhäsionsbildung auch in seinem Rattenmodell senken konnte. Die Tumormenge konnte jedoch durch Behandlung mit Icodextrin nicht reduziert werden. Proliferative Eigenschaften - im Sinne von vermehrter Tumorbesiedlung – wurden umgekehrt ebenso wenig von der Arbeitsgruppe beschrieben. Mehr Daten stehen derzeit als Vergleichsbasis nicht zur Verfügung. Unser Ergebnis lässt zwar hoffen, dass Icodextrin auch zur Nidationsprophylaxe bei Tumormetastasierung geeignet wäre, weitere Studien müssen dies aber belegen.

Die mit physiologischer NaCl-Lösung beimpften Versuchstiere wiesen ebenfalls signifikant verringerte Tumorbildung auf. Der mediane Score lag bei 2 (Kontrolle 3). Für das Tumorgewicht und die digital ermittelte Tumorfläche wurden ebenso kleinere Werte ermittelt als in der unbeimpften Kontrollgruppe. Die Literatur kann hierzu keinen Vergleich bieten. Physiologische NaCl-Lösung wurde in dieser Hinsicht noch nicht untersucht. Die vorliegenden Ergebnisse lassen jedoch vermuten, dass physiologische NaCl-Lösung durch Ausbildung eines künstlichen Aszites, zumindest partiell die Tumorzellnidation reduzieren kann. Aufgrund der schnellen Resorption der kristalloiden Lösungen aus dem Peritonealraum (Treutner und Schumpelick, 2000) ist die Wirkung jedoch (im Vergleich zu Icodextrin) schon alleine deshalb erheblich schwächer ausgeprägt.

6. SCHLUSSFOLGERUNGEN UND PERSPEKTIVEN

Aufgrund der bis heute bestehenden Problematik von postoperativen Adhäsionen im klinischen Alltag ist das Interesse an Präparaten zur Prävention und Reduktion nach wie vor groß. Die Erprobung neuer Behandlungsmethoden in dieser Richtung hat die Forschung in den letzten Jahren intensiv beschäftigt und vorangetrieben. Viel

versprechende Untersuchungen an Tiermodellen und erste klinische Studien sind in der Literatur bereits beschrieben worden (Verco et al., 2000; diZerega et al., 2002; De Iaco et al., 2003; Marchino et al., 2003). Trotzdem werden diese Methoden nur in unzureichendem Maße im klinischen Alltag praktiziert. Neuere Daten, die auf einen pathophysiologischen Zusammenhang zwischen der Entstehung von Adhäsionen und der Ausbildung von Metastasen durch adhärente Tumorzellen verweisen (Lee et al., 1994; Jacobi et al., 1997; van den Tol et al., 1998), haben das Blickfeld der Forschung erweitert und allmählich differenziert. Antiadhäsive Substanzen werden nun auch in zunehmendem Maße auf ihre Fähigkeit zur Nidationsprophylaxe untersucht. Auf diesem neuen Gebiet sind indes noch große Forschungsdesiderate zu verzeichnen.

Vor diesem Hintergrund sollten in der vorliegenden Tierstudie die drei Substanzen Icodextrin, Hyaluronsäure und physiologische NaCl-Lösung im Vergleich auf ihre adhäsions- und nidationsprophylaktischen Wirkungen bei der Operation von Ovarialkarzinomen untersucht werden. Icodextrin und Hyaluronsäure haben sich in experimentellen und klinischen Studien bereits als effektiv in der Reduktion von Adhäsionen erwiesen. Ein Wirksamkeitsnachweis von physiologischer NaCl-Lösung zur Adhäsionsprophylaxe konnte in der Forschungsliteratur bisher allerdings nicht erbracht werden. Daten zur Nidationsprophylaxe fehlen bei dieser kristalloiden Lösung gänzlich.

Aufs Ganze gesehen zeigen die Resultate der vorliegenden Studie, dass alle Testsubstanzen potentielle Adjuvantien darstellen. Sie erwiesen sich als effektiv in der Reduzierung von Adhäsionen sowie der Einschränkung von Tumorwachstum. Gerade die im Rahmen unserer Studie erzielten Resultate zur Tumorreduktion sind bemerkenswert. Die positiven Ergebnisse unterstreichen zum Teil die Resultate der Vergleichsliteratur, sind andererseits aber auch neu und differenzierter als bisher in der Literatur beschriebene Daten (insbesondere für die Hyaluronsäure und die physiologische NaCl-Lösung).

Diese neuen Erkenntnisse sollten auf dem jetzigen Niveau aber noch kritisch beurteilt werden und in jedem Fall Anstoß zu weiteren, modifizierten Untersuchungen geben. So müsste in einem ersten Schritt die Anzahl der Versuchstiere erhöht werden. Die Wahl von 10 Mäusen pro Versuchsgruppe ist unter statistischen Gesichtspunkten zwar möglich, für die Vergleichbarkeit der Werte jedoch nicht ausreichend. Sich anschließende Studien am selben Tier könnten unter Zuhilfenahme größerer Testgruppen zu differenzierteren Ergebnissen gelangen und deren Aussagekraft

erhöhen. Darüber hinaus müssten derartige Studien auch an anderen Tiermodellen realisiert werden. Die unterschiedlichen peritonealen Verhältnisse zwischen Ratte, Kaninchen und Maus könnten die Effektivität der Substanzen beeinflussen. Neben der Modifikation am Tiermodell wäre genauso eine Veränderung des Tumormodells denkbar. Stets sollte jedoch ein differenziertes Studienmodell mit scharf umrissener Fragestellung ausgearbeitet werden, um den menschlichen Verhältnissen möglichst nahe zu kommen. Ausgehend von den Resultaten der vorliegenden Arbeit könnte ferner eine Modifikation bei den Testsubstanzen erfolgen. So könnten zwei Barriereprodukte kombiniert verabreicht werden, um die Wirksamkeit zu steigern. Die gleichzeitige Applikation eines systemischen (Icodextrin) und lokal wirksamen (Hyaluronsäuregel) Barriereproduktes könnte die antiadhäsive Wirkung am Ort des Traumas erweitern. Dabei müssten weiterführende Untersuchungen zunächst klären, ob die gleichzeitige Applikation von antiadhäsiven Barriereprodukten unter toxischen Gesichtspunkten sinnvoll erscheint. Ferner besteht eine Möglichkeit, das Studienmodell dieser Arbeit auf andere in der Literatur bereits beschriebene antiadhäsive Produkte auszuweiten und deren nidationsprophylaktische Wirksamkeit bei der Operation von Ovarialkarzinomen zu untersuchen. Denkbar wäre etwa eine Analyse anderer Hyaluronsäurederivate (Seprafilm[®]), gelförmiger antiadhäsiver Substanzen (Intergel[®], Sepracoat[®], SprayGel[®]) oder fester, membranöser Produkte (Interceed[®], Preclude[®]).

Resultieren aus solchen Untersuchungen fruchtbare Ergebnisse, stellt sich die Frage nach dem Einsatz in vivo am Patienten. Die Literatur macht hierzu bis dato nur spärliche Angaben. Die ersten klinischen Untersuchungen sind jedoch durchaus erfolgsversprechend und sollten Impulse für weiterführende klinische Auseinandersetzungen geben. Die Barriersubstanzen könnten sich im klinischen Alltag zum einen als Antiadhäsiva etablieren und zum anderen - über nidationsprophylaktische Eigenschaften - zumindest partiell Einfluss auf die Onkologie gewinnen und Behandlungsstrategien optimieren. Dort würden sich durch ihren Einsatz möglicherweise effektivere Therapieoptionen für die Behandlung einer Peritonealkarzinose im Rahmen eines Ovarialkarzinoms ergeben. Aufgrund der überzeugenden experimentellen Daten zur Adhäsions- und Nidationsprophylaxe dieser Arbeit erscheint eine klinische Überprüfung sinnvoll. Die Prognose von Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom im Stadium einer Peritonealkarzinose könnte unter Umständen erheblich verbessert werden.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Die Problematik von postoperativen Adhäsionen steht nach wie vor im Fokus wissenschaftlicher Untersuchungen. Obwohl sich bis heute kein klinischer Standard zur Prävention oder Therapie etabliert hat, gibt es im Rahmen der Forschung durchaus viel versprechende Ansätze, die Problematik zu lösen. In diesem Kontext sind auch Problemstellung, Problemlösungsversuche und Ergebnisse dieser Studie zu verstehen. Der derzeit überzeugendste Ansatz ist – nach kritischer Überprüfung der Forschungsdaten und nach Abwägung ihrer Vor- und Nachteile - die Applikation von physikalischen Adhäsionsbarrieren. Diese ermöglichen eine Trennung zwischen dem geschädigten Peritoneum und benachbarten Gewebsstrukturen während der Wundheilungsphase. Ihr klinischer Einsatz ist bisher immer noch zurückhaltend und auf das Gebiet der Adhäsionsprophylaxe beschränkt. Neuere wissenschaftliche Erkenntnisse zeigen indes, dass die Pathophysiologie der Bildung postoperativer Adhäsionen Parallelen zur Entstehung von peritonealen Metastasen aufweist. Die Ausbildung einer sekundären Peritonealkarzinose infolge eines Ovarialkarzinoms wird somit durch peritoneale Adhäsion von Tumorzellen erklärbar.

Zielstellung der vorliegenden Tierstudie war es, die Wirksamkeit dreier Barriereprodukte zur Adhäsions- und Nidationsprophylaxe bei der Operation von Ovarialkarzinomen zu untersuchen. Getestet wurden die Substanzen Icodextrin (Adept[®]), Hyaluronsäure (Hyalobarrier[®]-Gel) und physiologische NaCl-Lösung. Als Kontrollwert galt eine unbeimpfte Gruppe. 40 SCID-Mäuse (NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J) waren in den Versuch eingeschlossen und wurden randomisiert auf vier Gruppen à 10 Tieren verteilt. Allen Mäusen wurden mit einem Skalpell rechtsseitige peritoneale Verletzungen definierter Größe gesetzt. Ihnen wurden epitheliale humane Ovarialkarzinomzellen der Zelllinie SCOV3.ip injiziert. Anschließend erfolgte die Behandlung mit der jeweiligen Testsubstanz. Nach 21 postoperativen Tagen wurden die Mäuse relaparotomiert und ihre Befunde zur Adhäsionsbildung und zum Tumorwachstum anhand von etablierten Scores (Steller et al., 1988; Zühlke et al., 1990) ausgewertet. Zusätzlich wurden die Parameter Adhäsions- und Tumorlokalisierung, sowie Tumorfläche, -gewicht und -histologie ermittelt.

Alle Testsubstanzen (Icodextrin, Hyaluronsäure und physiologische NaCl-Lösung) konnten die Adhäsionsbildung und das Tumorwachstum reduzieren. In der unbeimpften Kontrollgruppe bildeten die Mäuse die signifikant stärksten Adhäsionen und Tumoren

aus. Die besten Resultate zur Adhäsionsreduktion erzielte die Hyaluronsäure. In der mit diesem Produkt beimpften Versuchsgruppe konnten die Adhäsionen zu allen anderen Gruppen signifikant verringert werden. Der Vergleich der einzelnen Präparate bezüglich der Tumorreduktion brachte nur signifikante Unterschiede im Vergleich zur unbeimpften Kontrollgruppe. Hyaluronsäure erreichte zwar auch hier die stärkste Reduktion, der Vergleich zu den übrigen Versuchssubstanzen (Icodextrin und physiologische NaCl-Lösung) ergab jedoch keine signifikanten Unterschiede. Die histologische Untersuchung des Tumormaterials erbrachte bei allen Tieren die Diagnose Peritonealkarzinose bei Ovarialkarzinom.

Die ermittelten Ergebnisse lassen – mit den Einschränkungen einer Tierstudie – vermuten, dass die Präparate Icodextrin, Hyaluronsäure und physiologische NaCl-Lösung effektive Adjuvantien in der Adhäsions- und Nidationsprophylaxe darstellen könnten. Im Fokus zukünftiger Forschung sollten die experimentelle Erprobung und kritische Prüfung weiterer Barriersubstanzen - einzeln und in Kombination – sowie deren Realisierung in vivo am Patienten stehen.

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. The American Fertility Society classifications of adnexal adhesions, distal tubal occlusion, tubal occlusion secondary to tubal ligation, tubal pregnancies, mullerian anomalies and intrauterine adhesions. *Fertil Steril.* 1988; 49: 944-955.
2. Acunzo G, Guida M, Pellicano M, Tommaselli GA, Di Spiezio Sardo A, Bifulco G, et al. Effectiveness of auto-cross-linked hyaluronic acid gel in the prevention of intrauterine adhesions after hysteroscopic adhesiolysis: a prospective, randomized, controlled study. *Hum Reprod.* 2003; 18: 1918-1921.
3. [AGbKR] Arbeitsgemeinschaft bevölkerungsbezogener Krebsregister in Deutschland in Zusammenarbeit mit dem (RKI) Robert-Koch-Institut , *Krebs in Deutschland- Häufigkeiten und Trends.* 2002
4. Al-Jaroudi D, Tulandi T. Adhesion prevention in gynecologic surgery. *Obstet Gynecol Surv.* 2004; 59: 360-367.
5. Alberts DS, Liu PY, Hannigan EV, O'Toole R, Williams SD, Young JA, et al. Intraperitoneal cisplatin plus intravenous cyclophosphamide versus intravenous cisplatin plus intravenous cyclophosphamide for stage III ovarian cancer. *N Engl J Med.* 1996; 335: 1950-1955.
6. Almeida OD, Jr., Val-Gallas JM. Conscious pain mapping. *J Am Assoc Gynecol Laparosc.* 1997; 4: 587-590.
7. Alponat A, Lakshminarasappa SR, Teh M, Rajnakova A, Moochhala S, Goh PM, et al. Effects of physical barriers in prevention of adhesions: an incisional hernia model in rats. *J Surg Res.* 1997; 68: 126-132.
8. Armstrong DK, Bundy B, Wenzel L, Huang HQ, Baergen R, Lele S, et al. Intraperitoneal cisplatin and paclitaxel in ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2006; 354: 34-43.
9. Asbun HJ, Pempinello C, Halasz NA. Small bowel obstruction and its management. *Int Surg.* 1989; 74: 23-27.
10. Aytekin FO, Tekin K, Kabay B, Erdem E, Erbis H, Ozden A. Role of a hyaluronic-acid derivative in preventing surgical adhesions and abscesses related to dropped bile and gallstones in an experimental model. *Am J Surg.* 2004; 188: 288-293.

11. Azziz R, Murphy AA, Rosenberg SM, Patton GW, Jr. Use of an oxidized, regenerated cellulose absorbable adhesion barrier at laparoscopy. *J Reprod Med.* 1991; 36: 479-482.
12. Bai F, Feng J, Cheng Y, Shi J, Yang R, Cui H. Analysis of gene expression patterns of ovarian cancer cell lines with different metastatic potentials. *Int J Gynecol Cancer.* 2006; 16: 202-209.
13. Baker DG, Masterson TM, Pace R, Constable WC, Wanebo H. The influence of the surgical wound on local tumor recurrence. *Surgery.* 1989; 106: 525-532.
14. Becker JM, Dayton MT, Fazio VW, Beck DE, Stryker SJ, Wexner SD, et al. Prevention of postoperative abdominal adhesions by a sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane: a prospective, randomized, double-blind multicenter study. *J Am Coll Surg.* 1996; 183: 297-306.
15. Berek JS. Epithelial Ovarian Cancer, in *Practical Gynecologic Oncology*. J.S. Berek and N.F. Hacker, Editors. 1994, Williams & Wilkins: Baltimore Maryland. p. 327-375.
16. Bouvy ND, Marquet RL, Jeekel J, Bonjer HJ. Laparoscopic surgery is associated with less tumour growth stimulation than conventional surgery: an experimental study. *Br J Surg.* 1997; 84: 358-361.
17. Braly PS, Klevecz RR. Flow cytometric evaluation of ovarian cancer. *Cancer.* 1993; 71: 1621-1628.
18. Braun S, Schindlbeck C, Hepp F, Janni W, Kantenich C, Riethmuller G, et al. Occult tumor cells in bone marrow of patients with locoregionally restricted ovarian cancer predict early distant metastatic relapse. *J Clin Oncol.* 2001; 19: 368-375.
19. Brinkhuis M, Baak JP, Meijer GA, van Diest PJ, Mogensen O, Bichel P, et al. Value of quantitative pathological variables as prognostic factors in advanced ovarian carcinoma. *J Clin Pathol.* 1996; 49: 142-148.
20. Bristow RE, Tomacruz RS, Armstrong DK, Trimble EL, Montz FJ. Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during the platinum era: a meta-analysis. *J Clin Oncol.* 2002; 20: 1248-1259.
21. Brun JL, Feyler A, Chene G, Saurel J, Brun G, Hocke C. Long-term results and prognostic factors in patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2000; 78: 21-27.

22. Busch OR, Hop WC, Hoyneck van Papendrecht MA, Marquet RL, Jeekel J. Blood transfusions and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med.* 1993; 328: 1372-1376.
23. Caballero J, Tulandi T. Effects of Ringer's lactate and fibrin glue on postsurgical adhesions. *J Reprod Med.* 1992; 37: 141-143.
24. Chi DS, Liao JB, Leon LF, Venkatraman ES, Hensley ML, Bhaskaran D, et al. Identification of prognostic factors in advanced epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2001; 82: 532-537.
25. Christen D, Buchmann P. Peritoneal adhesions after laparotomy: prophylactic measures. *Hepatogastroenterology.* 1991; 38: 283-286.
26. Cohen BM, Heyman T, Mast D. Use of intraperitoneal solutions for preventing pelvic adhesions in the rat. *J Reprod Med.* 1983; 28: 649-653.
27. Conroy SE, Baines L, Rodgers K, Deviren F, Verco SJ. Prevention of chemotherapy-induced intraperitoneal adhesion formation in rats by icodextrin at a range of concentrations. *Gynecol Oncol.* 2003; 88: 304-308.
28. Covens A, Carey M, Bryson P, Verma S, Fung Kee Fung M, Johnston M. Systematic review of first-line chemotherapy for newly diagnosed postoperative patients with stage II, III, or IV epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2002; 85: 71-80.
29. Davies DS. Kinetics of icodextrin. *Perit Dial Int.* 1994; 14: 45-50.
30. De Iaco PA, Muzzupapa G, Bovicelli A, Marconi S, Bitti SR, Sansovini M, et al. Hyaluronan derivative gel (Hyalobarrier[®] gel) in intrauterine adhesion (IUA) prevention after operative hysteroscopy. *Ellipse.* 2003; 19: 3-6.
31. Dittrich C. Die medikamentöse Therapie des Ovarialkarzinoms. *Wien-Med-Wochenschr.* 1996; 146: 23 - 33.
32. diZerega GS, Rodgers K. Intraperitoneal Adhesions, in *The Peritoneum.*, Springer Verlag: New York. 1992; 274-306.
33. diZerega GS, Rodgers K, eds. *The Peritoneum.* Springer Verlag: New York. 1992; 2-22.
34. diZerega GS. Use of adhesion prevention barriers in ovarian surgery, tubalplasty, ectopic pregnancy, endometriosis, adhesiolysis, and myomectomy. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1996; 8: 230-237.
35. diZerega GS. Biochemical events in peritoneal tissue repair. *Eur J Surg Suppl.* 1997: 10-16.

36. diZerega GS, Verco SJ, Young P, Kettel M, Kobak W, Martin D, et al. A randomized, controlled pilot study of the safety and efficacy of 4% icodextrin solution in the reduction of adhesions following laparoscopic gynaecological surgery. *Hum Reprod.* 2002; 17: 1031-1038.
37. Eggermont AM, Steller EP, Sugarbaker PH. Laparotomy enhances intraperitoneal tumor growth and abrogates the antitumor effects of interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells. *Surgery.* 1987; 102: 71-78.
38. Engel J, Schubert-Fritschle G. Epidemiologie, in *Manual maligne Ovarialtumoren Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge*, R. Kuhn, Editor., Tumorzentrum München: München. 2001; 1-9.
39. Farquhar C, Vandekerckhove P, Watson A, Vail A, Wiseman D. Barrier agents for preventing adhesions after surgery for subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000: CD000475.
40. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin D. GLOBOCAN 2000: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. Version 1.0. IARC Cancer BASE No. 5. IARC Press 2001. www-dep.iarc.fr/eucan/eucan.htm
41. Flessner MF, Lofthouse J. Of mice and men: species and age differences in dialysis with icodextrin. *J Am Soc Nephrol.* 1999; 10: 226A.
42. Flessner MF, Peers EM, Rodgers KE. Volumetric analyses following intraperitoneal (IP) administration of 4% icodextrin and saline to laboratory animals: peritoneal a-amylase and model suitability. *Perit Dial Int.* 2000; 20: S13.
43. Ghellai AM, Stucchi AF, Lynch DJ, Skinner KC, Colt MJ, Becker JM. Role of a hyaluronate-based membrane in the prevention of peritonitis-induced adhesions. *J Gastrointest Surg.* 2000; 4: 310-315.
44. Gilbert JA, Peers EM, Brown CB. Intra-peritoneal fluid dynamics of 4% icodextrin in non-ESRD patients. *Perit Dial Int.* 1999; 19: S79.
45. Gomel V, Urman B, Gurgan T. Pathophysiology of adhesion formation and strategies for prevention. *J Reprod Med.* 1996; 41: 35-41.
46. Grosz C, Aka E, Zimmer J, Alterwein R. The effect of intraperitoneal fluids on the prevention of experimental adhesions. *Surgery.* 1966; 60: 1232-1234.
47. Guida M, Acunzo G, Di Spiezio Sardo A, Bifulco G, Piccoli R, Pellicano M, et al. Effectiveness of auto-crosslinked hyaluronic acid gel in the prevention of intrauterine adhesions after hysteroscopic surgery: a prospective, randomized, controlled study. *Hum Reprod.* 2004; 19: 1461-1464.

48. Gutman M, Fidler IJ. Biology of human colon cancer metastasis. *World J Surg.* 1995; 19: 226-234.
49. Gutt CN, Riemer V, Kim ZG, Jacobi CA, Paolucci V, Lorenz M. Impact of laparoscopic colonic resection on tumour growth and spread in an experimental model. *Br J Surg.* 1999; 86: 1180-1184.
50. Harris ES, Morgan RF, Rodeheaver GT. Analysis of the kinetics of peritoneal adhesion formation in the rat and evaluation of potential antiadhesive agents. *Surgery.* 1995; 117: 663-669.
51. Haverlag R, van Rossen ME, van den Tol MP, Bonthuis F, Marquet RL, Jeekel J. Hyaluronate-based coating solution for prevention of surgical adhesions has no major effect on adhesion and growth of intraperitoneal tumour cells. *Eur J Surg.* 1999; 165: 791-795.
52. Hellebrekers BW, Trimbos-Kemper GC, van Blitterswijk CA, Bakkum EA, Trimbos JB. Effects of five different barrier materials on postsurgical adhesion formation in the rat. *Hum Reprod.* 2000; 15: 1358-1363.
53. Hofer SO, Molema G, Hermens RA, Wanebo HJ, Reichner JS, Hoekstra HJ. The effect of surgical wounding on tumour development. *Eur J Surg Oncol.* 1999; 25: 231-243.
54. Holmdahl L, Risberg B. Adhesions: prevention and complications in general surgery. *Eur J Surg.* 1997; 163: 169-174.
55. Holmdahl L. Making and covering of surgical footprints. *Lancet.* 1999; 353: 1456-1457.
56. Holschneider CH, Berek JS. Ovarian cancer: epidemiology, biology, and prognostic factors. *Semin Surg Oncol.* 2000; 19: 3-10.
57. Horn IC, Fricke K, Krugmann J. Histologische Klassifikation und morphologische Prognosefaktoren bei malignen Ovarialtumoren. *Zentralblatt für Gynäkologie.* 1995: 335 - 345.
58. Hosie K, Gilbert JA, Kerr D, Brown CB, Peers EM. Fluid dynamics in man of an intraperitoneal drug delivery solution: 4% icodextrin. *Drug Deliv.* 2001; 8: 9-12.
59. Howard FM. The role of laparoscopy in chronic pelvic pain: promise and pitfalls. *Obstet Gynecol Surv.* 1993; 48: 357-387.
60. Hribaschek A, Kuhn R, Pross M, Lippert H, Halangk W, Boltze C, et al. Prophylaxis of peritoneal carcinomatosis in experimental investigations. *Int J Colorectal Dis.* 2001; 16: 340-345.

61. Hubbard SC, Burns JW. Effects of a hyaluronan-based membrane (Seprafilm) on intraperitoneally disseminated human colon cancer cell growth in a nude mouse model. *Dis Colon Rectum*. 2002; 45: 334-341; discussion 341-334.
62. Irwin KL, Weiss NS, Lee NC, Peterson HB. Tubal sterilization, hysterectomy, and the subsequent occurrence of epithelial ovarian cancer. *Am J Epidemiol*. 1991; 134: 362-369.
63. Jacobi CA, Ordemann J, Bohm B, Zieren HU, Liebenthal C, Volk HD, et al. The influence of laparotomy and laparoscopy on tumor growth in a rat model. *Surg Endosc*. 1997; 11: 618-621.
64. Jacobi CA, Peter FJ, Wenger FA, Ordemann J, Muller JM. New therapeutic strategies to avoid intra- and extraperitoneal metastases during laparoscopy: results of a tumor model in the rat. *Dig Surg*. 1999; 16: 393-399.
65. Jänicke F, Holscher M, Kuhn W, von Hugo R, Pache L, Siewert JR, et al. Radical surgical procedure improves survival time in patients with recurrent ovarian cancer. *Cancer*. 1992; 70: 2129-2136.
66. Jänicke F. Das fortgeschrittene Ovarialkarzinom. *Deutsches Ärzteblatt*. 1999; 207 - 214.
67. Johns DB, Keyport GM, Hoehler F, diZerega GS. Reduction of postsurgical adhesions with Intergel adhesion prevention solution: a multicenter study of safety and efficacy after conservative gynecologic surgery. *Fertil Steril*. 2001; 76: 595-604.
68. Korell M, diZerega GS, Gürkan T, Keckslein, Larsson B, Schlösser HW, Wallwiener D. Möglichkeiten der Adhäsionsprophylaxe. *medifact*. 1995
69. Kreienberg R. "Die operative Therapie des Ovarialkarzinoms",. *Der Onkologe*. 1998; 4: 123 - 1130.
70. Kuhn W, Schmalfeldt B, Pache L, Spathe K, Ulm K, Renziehausen K, et al. Disease-adapted relapse therapy for ovarian cancer: results of a prospective study. *Int J Oncol*. 1998; 13: 57-63.
71. Kuhn W, Schmalfeldt B, Reuning U, Pache L, Berger U, Ulm K, et al. Prognostic significance of urokinase (uPA) and its inhibitor PAI-1 for survival in advanced ovarian carcinoma stage FIGO IIIc. *Br J Cancer*. 1999; 79: 1746-1751.
72. Kuhn W, Hamann U, Rehbock J, Schmalfeldt B, Schwoerer. Operative Therapie, in: Manual maligne Ovarialtumoren Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. W. Kuhn, Editor. 2001, Tumorzentrum München: München. 24-31.

73. Leath CA, Kataram M, Bhagavatula P, Gopalkrishnan RV, Dent P, Fisher PB, et al. Infectivity enhanced adenoviral-mediated mda-7/IL-24 gene therapy for ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2004; 94: 352-362.
74. Lee JY, Murphy SM, Scanlon EF. Effect of trauma on implantation of metastatic tumor in bone in mice. *J Surg Oncol*. 1994; 56: 178-184.
75. Lessan K, Aguiar DJ, Oegema T, Siebenson L, Skubitz AP. CD44 and beta1 integrin mediate ovarian carcinoma cell adhesion to peritoneal mesothelial cells. *Am J Pathol*. 1999; 154: 1525-1537.
76. Lichtenegger W, Sehouli J, Buchmann E, Weidemann H. Das fortgeschrittene Karzinom - Möglichkeiten und Grenzen der operativen Therapie des Ovarialkarzinoms, in *Berichtsband des 53. Kongresses der DGGG*, G. Kindermann and T. Dimpfl, Editors. 2001; 94 - 98.
77. Lower AM, Hawthorn RJ, Ellis H, O'Brien F, Buchan S, Crowe AM. The impact of adhesions on hospital readmissions over ten years after 8849 open gynaecological operations: an assessment from the Surgical and Clinical Adhesions Research Study. *Br J Obstet Gynaecol*. 2000; 107: 855-862.
78. Mahasreshti PJ, Kataram M, Wang MH, Stockard CR, Grizzle WE, Carey D, et al. Intravenous delivery of adenovirus-mediated soluble FLT-1 results in liver toxicity. *Clin Cancer Res*. 2003; 9: 2701-2710.
79. Marchino GL, Bar E, Piccinno R, Lipari G, Massobrio M. Hyaluronic acid (Hyalobarrier[®]) in the prevention of post-operative adhesions: Experiences in gynecological pathologies. *Ellipse*. 2003; 19: 7-10.
80. Markman M, Bundy BN, Alberts DS, Fowler JM, Clark-Pearson DL, Carson LF, et al. Phase III trial of standard-dose intravenous cisplatin plus paclitaxel versus moderately high-dose carboplatin followed by intravenous paclitaxel and intraperitoneal cisplatin in small-volume stage III ovarian carcinoma: an intergroup study of the Gynecologic Oncology Group, Southwestern Oncology Group, and Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2001; 19: 1001-1007.
81. Mayr D, Diebold J. Grading of ovarian carcinomas. *Int J Gynecol Pathol*. 2000; 19: 348-353.
82. McGuire WP, Hoskins WJ, Brady MF, Kucera PR, Partridge EE, Look KY, et al. Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer. *N Engl J Med*. 1996; 334: 1-6.

83. McGuire WP, Hoskins WJ, Brady MF, Kucera PR, Partridge EE, Look KY, et al. Comparison of combination therapy with paclitaxel and cisplatin versus cyclophosphamide and cisplatin in patients with suboptimal stage III and stage IV ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. *Semin Oncol.* 1997; 24: S2-13-S12-16.
84. Menderes A, Mola F, Tayfur V, Vayvada H, Barutcu A. Prevention of peritendinous adhesions following flexor tendon injury with seprafilm. *Ann Plast Surg.* 2004; 53: 560-564.
85. Mensitieri M, Ambrosio L, Nicolais L, Bellini D, O'Regan M. Viscoelastic properties modulation of a novel auto-cross-linked hyaluronic acid polymer. *J Mater Sci Mater Med* 1996. 1996; 7: 695-698.
86. Menzies D, Ellis H. Intestinal obstruction from adhesions--how big is the problem? *Ann R Coll Surg Engl.* 1990; 72: 60-63.
87. Menzies D. Peritoneal adhesions. Incidence, cause, and prevention. *Surg Annu.* 1992; 24 Pt 1: 27-45.
88. Menzies D, Parker M, Hoare R, Knight A. Small bowel obstruction due to postoperative adhesions: treatment patterns and associated costs in 110 hospital admissions. *Ann R Coll Surg Engl.* 2001; 83: 40-46.
89. Mettler L. Pelvic adhesions: laparoscopic approach. *Ann N Y Acad Sci.* 2003; 997: 255-268.
90. Mettler L, Audebert A, Lehmann-Willenbrock E, Schive-Peterhansl K, Jacobs VR. A randomized, prospective, controlled, multicenter clinical trial of a sprayable, site-specific adhesion barrier system in patients undergoing myomectomy. *Fertil Steril.* 2004; 82: 398-404.
91. Milingos S, Kallipolitis G, Loutradis D, Liapi A, Mavrommatis K, Drakakis P, et al. Adhesions: laparoscopic surgery versus laparotomy. *Ann N Y Acad Sci.* 2000; 900: 272-285.
92. Miller RS, Steward DL, Tami TA, Sillars MJ, Seiden AM, Shete M, et al. The clinical effects of hyaluronic acid ester nasal dressing (Merogel) on intranasal wound healing after functional endoscopic sinus surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003; 128: 862-869.
93. Murthy SM, Goldschmidt RA, Rao LN, Ammirati M, Buchmann T, Scanlon EF. The influence of surgical trauma on experimental metastasis. *Cancer.* 1989; 64: 2035-2044.

94. Müller SA, Treutner KH, Jorn H, Anurov M, Oettinger AP, Schumpelick V. Phospholipids reduce adhesion formation in the rabbit uterine horn model. *Fertil Steril*. 2002; 77: 1269-1273.
95. Müller SA, Treutner KH, Haase G, Kinzel S, Tietze L, Schumpelick V. Effect of intraperitoneal antiadhesive fluids in a rat peritonitis model. *Arch Surg*. 2003; 138: 286-290. [a]
96. Müller SA, Treutner KH, Anurov M, Titkova S, Oettinger AP, Schumpelick V. Experimental evaluation of phospholipids and icodextrin in re-formation of peritoneal adhesions. *Br J Surg*. 2003; 90: 1604-1607. [b]
97. Müller SA, Treutner KH. Adhäsionsprophylaxe in der Chirurgie. Uni-Med Science. 2005; 16.
98. Müller H. Die Hyperthermie im Gesamtkonzept der Behandlung des Bauchfellkrebs. *Deutsche Zeitschrift für Onkologie*. 2006.
99. München T, *Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge: Maligne Ovarialtumoren*, ed. B. Schmalfeldt. 2004, München: Tumorzentrum München W. Zuckschwerdt Verlag.
100. Naegli T. Die klinische Bedeutung und Bewertung der abdominellen Verwachsungen. *Beiträge zur klinischen Chirurgie*. 1922; 408-416.
101. [NIH] National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement. Ovarian cancer: screening, treatment, and follow-up. *Gynecol Oncol*. 1994; 55: S4-14.
102. Ozols RF. Update on the management of ovarian cancer. *Cancer*. 2002; 8: 22 - 30.
103. Pados GA, Devroey P. Adhesions. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 1992; 4: 412-418.
104. Pagidas K, Tulandi T. Effects of Ringer's lactate, Interceed(TC7) and Gore-Tex Surgical Membrane on postsurgical adhesion formation. *Fertil Steril*. 1992; 57: 199-201.
105. Parazzini F, Raspagliesi F, Guarnerio P, Bolis G. Role of secondary surgery in relapsed ovarian cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2001; 37: 121-125.
106. Payr E. Biologisches zur Entstehung, Rückbildung und Vorbeugung von Bauchfellverwachsungen. *Zentralbl Gynäkol*. 1924: 718-726.
107. Peters AA, Trimbos-Kemper GC, Admiraal C, Trimbos JB, Hermans J. A randomized clinical trial on the benefit of adhesiolysis in patients with intraperitoneal adhesions and chronic pelvic pain. *Br J Obstet Gynaecol*. 1992; 99: 59-62.

108. Pfisterer J, du Bois A. *Das Ovarialkarzinom. Therapeutische Standards - klinische Empfehlungen*. Stuttgart: Thieme Verlag. 2002
109. Pfleiderer A, *Malignome des Ovars*, in *Klinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe Bd. 12*, K.H. Wulf and H. Schmidt-Matthiesen, Editors. 1991, Urban & Schwarzenberg: Berlin, Baltimore, Wien., p. 45-130.
110. Pingpank JF, *Cancer: Principles and practice of oncology*, ed. T. de Vita. 2005. 2237-2246.
111. Pucciarelli S, Codello L, Rosato A, Del Bianco P, Vecchiato G, Lise M. Effect of antiadhesive agents on peritoneal carcinomatosis in an experimental model. *Br J Surg*. 2003; 90: 66-71.
112. Räf LE. Causes of abdominal adhesions in cases of intestinal obstruction. *Acta Chir Scand*. 1969; 135: 73-76.
113. Rapkin AJ. Adhesions and pelvic pain: a retrospective study. *Obstet Gynecol*. 1986; 68: 13-15.
114. Rapkin AJ, Mayer EA. Gastroenterologic causes of chronic pelvic pain. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 1993; 20: 663-683.
115. Ray NF, Larsen JW, Jr., Stillman RJ, Jacobs RJ. Economic impact of hospitalizations for lower abdominal adhesiolysis in the United States in 1988. *Surg Gynecol Obstet*. 1993; 176: 271-276.
116. Reijnen MM, Skrabut EM, Postma VA, Burns JW, van Goor H. Polyanionic polysaccharides reduce intra-abdominal adhesion and abscess formation in a rat peritonitis model. *J Surg Res*. 2001; 101: 248-253.
117. Rimbach S, Korell M, H.-R. T, De Wilde R-L. Adhäsionen und ihre Prävention in der gynäkologischen Chirurgie: Standortbestimmung und aktueller Konsensus basierend auf den Ergebnissen von vier Workshops. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*. 2004; 64: 891-899.
118. Risberg B. Adhesions: preventive strategies. *Eur J Surg Suppl*. 1997: 32-39.
119. [RKI] Robert-Koch-Institut, *Krebskrankheiten*. 2002: Berlin.
120. Rocconi RP, Numnum MT, Zhu ZB, Lu B, Wang M, Rivera AA, et al. Icodextrin enhances survival in an intraperitoneal ovarian cancer murine model utilizing gene therapy. *Gynecol Oncol*. 2006.
121. Rodgers KE, Verco SJ, diZerega GS. Effects of intraperitoneal 4% icodextrin solution on the healing of bowel anastomoses and laparotomy incisions in rabbits. *Colorectal Dis*. 2003; 5: 324-330.

122. Roman H, Canis M, Kamble M, Botchorishvili R, Pouly JL, Mage G. Efficacy of three adhesion-preventing agents in reducing severe peritoneal trauma induced by bipolar coagulation in a laparoscopic rat model. *Fertil Steril.* 2005; 83 Suppl 1: 1113-1118.
123. Scharf A, Günter HH, Sohn S. Screening auf Ovarialkarzinom. *Der Gynäkologe.* 2002; 35: 537-547.
124. Schmidt-Matthiesen H, Bastert G, Wallwiener D. *Gynäkologische Onkologie. Diagnostik, Therapie und Nachsorge auf der Basis der AGO-Leitlinien.* Schattauer: Stuttgart, New York. 2002; 73 - 96.
125. Schneider A, Bennek J, Olsen KO, Weiss J, Schmidt W, Rolle U. Experimental study evaluating the effect of a barrier method on postoperative intraabdominal adhesions. *Dig Dis Sci.* 2006; 51: 566-570.
126. Schwartz PE, Chambers JT, Taylor KJ. Early detection and screening for ovarian cancer. *J Cell Biochem Suppl.* 1995; 23: 233-237.
127. Scully RE, Young RH, Clement PB, *Atlas of tumor Pathology: Tumors of ovary, maldeveloped gonads, fallopian tube, and broad ligament.* 1998, Washington D.C.: AFIP.
128. Scully RE, Sobin L, H., (WHO) WHO, *International Histological Classification of Tumours. Histological Typing of Ovarian Tumours.* Berlin, Heidelberg: Springer. 1999
129. Seifer DB, Diamond MP, DeCherney AH. An appraisal of barrier agents in the reduction of adhesion formation following surgery. *J Gynecol Surg.* 1990; 6: 3-10.
130. Shear L, Swartz C, Shinaberger J et al. Kinetics of peritoneal fluid absorption in adult man. *N Engl J Med.* 1965; 272: 123-127
131. Sikkink CJ, Postma VA, Reijnen MM, De Man B, Bleichrodt RP, Van Goor H. Hyaluronan-based antiadhesive membrane has no major effect on intraperitoneal growth of colonic tumour cells. *Eur Surg Res.* 2004; 36: 123-128.
132. Sites CK, Jensen BA, Glock JL et al. Transvaginal ultrasonographic assessment of Hyskon or lactated Ringer`solution instillation after laparoscopy: randomized controlled study. *J Ultrasound Med.* 1997; 16: 195-199
133. Soybel DI, *Ileus and bowel obstruction, in Surgery: Scientific Principles and Practice,* L.J. Greenfield, Editor. Lippincott-Raven: Philadelphia. 1997; 817-883.
134. Sprosen TS, Van Bree M, Andry P, Divino Filho JC. European clinical experience with Extraneal (icodextrin 7.5 %) in 1314 patients. *Perit Dial Int.* 2002; 22.

135. Steller EP, Ottow RT, Eggermont AM, Marquet RL, Sugarbaker PH. Local conditions in the host influence immunotherapy with interleukin-2 and LAK cells. *Cancer Detect Prev.* 1988; 12: 81-90.
136. Strickler B, Blanco J, Fox HE. The gynecologic contribution to intestinal obstruction in females. *J Am Coll Surg.* 1994; 178: 617-621.
137. Stroehlein MA, Lordick F, Ruettinger D, Gruetzner U, Menzel H, Bartelheim K, et al. Treatment of peritoneal carcinomatosis due to GI-tract cancer by intraperitoneal application of the trifunctional antibody catumaxomab (anti-EpcAM x anti-CD3): Results of a phase I/II trial. *ASCO Meeting Abstracts.* 2005; 23: Abstract 2529.
138. Sugarbaker PH. A perspective on clinical research strategies in carcinoma of the large bowel. *World J Surg.* 1991; 15: 609-616.
139. Sugarbaker PH. Peritonectomy procedures. *Ann Surg.* 1995; 221: 29-42.
140. Sugarbaker PH, Schellinx ME, Chang D, Koslowe P, von Meyerfeldt M. Peritoneal carcinomatosis from adenocarcinoma of the colon. *World J Surg.* 1996; 20: 585-591; discussion 592.
141. Sulaiman H, Gabella G, Davis MC, Mutsaers SE, Boulos P, Laurent GJ, et al. Presence and distribution of sensory nerve fibers in human peritoneal adhesions. *Ann Surg.* 2001; 234: 256-261.
142. Tan B, Wang JH, Wu QD, Kirwan WO, Redmond HP. Sodium hyaluronate enhances colorectal tumour cell metastatic potential in vitro and in vivo. *Br J Surg.* 2001; 88: 246-250.
143. Tateishi M, Ichiyoshi Y, Kawano T, Toda T, Minamisono Y, Nagasaki S. Recurrent pattern of digestive tract carcinoma in the Japanese: comparison of gastric cancer to colon cancer. *Int Surg.* 1995; 80: 41-44.
144. Tay EH, Grant PT, Gebiski V, Hacker NF. Secondary cytoreductive surgery for recurrent epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol.* 2002; 99: 1008-1013.
145. Ten Raa ST, Oosterling SJ, van der Kaaij NP, van den Tol MP, Beelen RH, Meijer S, et al. Surgery promotes implantation of disseminated tumor cells, but does not increase growth of tumor cell clusters. *J Surg Oncol.* 2005; 92: 124-129.
146. Thornton MH, Johns DB, Campeau JD, Hoehler F, DiZerega GS. Clinical evaluation of 0.5% ferric hyaluronate adhesion prevention gel for the reduction of adhesions following peritoneal cavity surgery: open-label pilot study. *Hum Reprod.* 1998; 13: 1480-1485.

147. Tingulstad S, Skjeldestad FE, Halvorsen TB, Hagen B. Survival and prognostic factors in patients with ovarian cancer. *Obstet Gynecol.* 2003; 101: 885-891.
148. Treutner KH, Bertram P, Loser S, Winkeltau G, Schumpelick V. Prevention and therapy of intra-abdominal adhesions. A survey of 1,200 clinics in Germany. *Chirurg.* 1995; 66: 398-403.
149. Treutner KH, Schumpelick V. [Prevention of adhesions. Wish and reality]. *Chirurg.* 2000; 71: 510-517.
150. Tulandi T, Chen MF, Al-Took S, Watkin K. A study of nerve fibers and histopathology of postsurgical, postinfectious, and endometriosis-related adhesions. *Obstet Gynecol.* 1998; 92: 766-768.
151. Underwood RA, Wu JS, Wright MP, Ruiz MB, Pfister SM, Connett JM, et al. Sodium hyaluronate carboxymethylcellulose-based bioresorbable membrane (Seprafilm)--does it affect tumor implantation at abdominal wound sites? *Dis Colon Rectum.* 1999; 42: 614-618; discussion 618-619.
152. van den Tol MP, van Stijn I, Bonthuis F, Marquet RL, Jeekel J. Reduction of intraperitoneal adhesion formation by use of non-abrasive gauze. *Br J Surg.* 1997; 84: 1410-1415.
153. van den Tol PM, van Rossen EE, van Eijck CH, Bonthuis F, Marquet RL, Jeekel H. Reduction of peritoneal trauma by using nonsurgical gauze leads to less implantation metastasis of spilled tumor cells. *Ann Surg.* 1998; 227: 242-248.
154. van den Tol MP, Haverlag R, van Rossen ME, Bonthuis F, Marquet RL, Jeekel J. Glove powder promotes adhesion formation and facilitates tumour cell adhesion and growth. *Br J Surg.* 2001; 88: 1258-1263.
155. van den Tol P, ten Raa S, van Grevenstein H, Marquet R, van Eijck C, Jeekel H. Icodextrin reduces postoperative adhesion formation in rats without affecting peritoneal metastasis. *Surgery.* 2005; 137: 348-354.
156. van Westreenen M, van den Tol PM, Pronk A, Marquet RL, Jeekel J, Leguit P. Perioperative lavage promotes intraperitoneal adhesion in the rat. *Eur Surg Res.* 1999; 31: 196-201.
157. Verco SJ, Peers EM, Brown CB, Rodgers KE, Roda N, diZerega G. Development of a novel glucose polymer solution (icodextrin) for adhesion prevention: pre-clinical studies. *Hum Reprod.* 2000; 15: 1764-1772.

158. Verco SJ, diZerega G. Tolerability and effectiveness of 4% icodextrin solution in the reduction of post-surgical adhesions following laparoscopic surgery: amulticenter, pilot, clinical study. *J Reprod Fertil Abstr Ser.* 2000; 25: 62.
159. Wagner U, Blohmer JU, Lück HJ. Medikamentöse Rezidivtherapie. *Der Gynäkologe.* 2001; 34: 1020 - 1023.
160. Wallwiener D, Meyer A, Bastert G. Adhesion formation of the parietal and visceral peritoneum: an explanation for the controversy on the use of autologous and alloplastic barriers? *Fertil Steril.* 1998; 69: 132-137.
161. Wang R, Moberly JB, Martis L, Shockley TR, Mongoven JW, Patel H, et al. A rapid assay for icodextrin determination in plasma and dialysate. *Adv Perit Dial.* 2002; 18: 91-95.
162. Watson A, Vandekerckhove P, Lilford R. Liquid and fluid agents for preventing adhesions after surgery for subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000: CD001298.
163. Weese JL, Ottery FD, Emoto SE. Do operations facilitate tumor growth? An experimental model in rats. *Surgery.* 1986; 100: 273-277.
164. Wiseman DM, Trout JR, Diamond MP. The rates of adhesion development and the effects of crystalloid solutions on adhesion development in pelvic surgery. *Fertil Steril.* 1998; 70: 702-711.
165. Wiseman DM, Trout JR, Franklin RR, Diamond MP. Metaanalysis of the safety and efficacy of an adhesion barrier (Interceed TC7) in laparotomy. *J Reprod Med.* 1999; 44: 325-331.
166. Wiseman DM, Gravagna P, Bayon Y, Tayot J. Collagen membrane/fleece composite film reduces adhesions in the presence of bleeding in a rabbit uterine horn model. *Fertil Steril.* 2001; 76: 175-180.
167. Wittekind C, Meyer HJ, Bootz F. *UICC, TNM-Klassifikation maligner Tumoren.* 6. Auflage ed. 2002, Berlin Heidelberg: Springer.
168. Yaacobi Y, Goldberg EP, Habal MB. Effect of Ringer's lactate irrigation on the formation of postoperative abdominal adhesions. *J Invest Surg.* 1991; 4: 31-36.
169. Zühlke HV, Lorenz EM, Straub EM, Savvas V. [Pathophysiology and classification of adhesions]. *Langenbecks Arch Chir Suppl II Verh Dtsch Ges Chir.* 1990: 1009-1016.

9. ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Fixierung der Maus auf dem Operationstisch

Abbildung 2: Setzen der Peritonealverletzung

Abbildung 3: Verteilung der Adhäsionsscores pro Versuchsgruppe im Vergleich

Abbildung 4: Boxplot Adhäsionscore

Abbildung 5: Verteilung der Adhäsionslokalisationen pro Versuchsgruppe im Vergleich

Abbildung 6: Adhäsionsstrang

Abbildung 7: Darmadhäsion an das rechte parietale Peritoneum

Abbildung 8: Darmadhäsion und peritoneales Tumorwachstum rechts

Abbildung 9: Verteilung der Tumorscores pro Versuchsgruppe im Vergleich

Abbildung 10: Boxplot Tumorscore

Abbildung 11: Verteilung der Tumorlokalisationen pro Versuchsgruppe im Vergleich

Abbildung 12: Peritoneales Tumorwachstum rechts

Abbildung 13: Peritoneales Tumorwachstum und Adhäsionsstrang rechts (I)

Abbildung 14: Peritoneales Tumorwachstum und Adhäsionsstrang rechts (II)

Abbildung 15: Boxplot Tumorgewicht

Abbildung 16: Boxplot Tumorfläche

Abbildung 17: Tumorzellwachstum und Tumorzellinfiltration

Abbildung 18: Tumorzellen

TABELLENVERZEICHNIS

- Tabelle 1:** Stadieneinteilung des Ovarialkarzinoms nach Mayr und Diebold (2000)
- Tabelle 2:** Gruppeneinteilung der Pilotstudie
- Tabelle 3:** Dosierungsschema der Medikamente
- Tabelle 4:** Versuchsschema Hauptstudie
- Tabelle 5:** Modifizierte Klassifikation nach Zühlke et al. (1990)
- Tabelle 6:** Modifizierte Klassifikation nach van den Tol et al. (2005)
- Tabelle 7:** Skala zur Bestimmung der Tumorausdehnung nach Steller et al. (1988)
- Tabelle 8:** Ergebnisse der Pilotstudie (I)
- Tabelle 9:** Ergebnisse der Pilotstudie (II)
- Tabelle 10:** Auswertung der Adhäsionsscores in den verschiedenen Versuchsgruppen
- Tabelle 11:** Median, Minimum, Maximum und Statistik der Adhäsionsscores
- Tabelle 12:** Lokalisation der Adhäsionen in den einzelnen Versuchsgruppen
- Tabelle 13:** Auswertung der Tumorscores in den verschiedenen Versuchsgruppen
- Tabelle 14:** Median, Minimum, Maximum und Statistik der Tumorscores
- Tabelle 15:** Lokalisation der Tumoren in den einzelnen Versuchsgruppen
- Tabelle 16:** Tumorgewichte in den einzelnen Versuchsgruppen
- Tabelle 17:** Mittelwert, Standardabweichung, Median, Maximum und Minimum der Tumorgewichte in den einzelnen Gruppen
- Tabelle 18:** Einzelmesswerte der Tumorflächen
- Tabelle 19:** Mittelwerte und Standardabweichungen der Tumorflächen in den einzelnen Gruppen

DANKSAGUNG

Mein Dank gilt:

Herrn PD. Dr. med. S. Rimbach für die Überlassung des interessanten Themas und die umfangreiche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit;

Herrn J. Roos für die produktive Zusammenarbeit bei der Durchführung der Versuche;

Herrn Dr. sc. agr. A. Teubner sowie allen Mitarbeitern des Institutes für Versuchstierkunde der RWTH Aachen für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Experimente;

Frau PD Dr. med. M. Breidenbach für die Bereitstellung der Tumorzellen;

Herrn Dr. med. A. Donner für die Erstellung der histologischen Schnitte und Bilder im Institut für Pathologie der RWTH Aachen;

Frau A. Steinle für die umfangreiche Unterstützung bei der Auswertung der Pilotstudie.

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig, ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

Aachen, Dezember 2006

Inga Bekes

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Hiermit erkläre ich, dass ich bisher keine Promotionsversuche unternommen habe. Weder diese noch eine andere Dissertation wurde von mir im Inland oder Ausland einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Aachen, Dezember 2006

Inga Bekes

LEBENS LAUF

Persönliche Daten:

Name	Inga Bekes
Geburtsdatum	13.10.1981
Geburtsort	Bochum
Wohnort	52064 Aachen, Stromgasse 42-50
Staatsangehörigkeit	deutsch
Konfession	evangelisch
Familienstand	ledig
Eltern	Dr. phil. Klaus Peter Bekes; geb. am 21.06.1946 Ursel Bekes, geb. Dreisbach; geb. am 15.04.1947 45527 Hattingen, Im Wiesenhof 4

Schulbesuch:

1988 – 1992	Besuch der Grundschule Alt-Blankenstein in Hattingen
1992 – 2001	Besuch des Gymnasiums im Schulzentrum Hattingen-Holthausen
11. Juni 2001	Allgemeine Hochschulreife

Hochschulbesuch:

Oktober 2001 – September 2003	Studium der Humanmedizin an der Ruhr-Universität Bochum, vorklinischer Abschnitt
08. September 2003	Ärztliche Vorprüfung
Oktober 2003 – Juli 2007	Studium der Humanmedizin an der Rheinisch- Westfälischen Technischen Hochschule Aachen, klinischer Abschnitt
04. Dezember 2007	Ärztliche Prüfung
12. Dezember 2007	Approbation als Ärztin