

INTRA-ARTERIELE KANKERCHEMOTHERAPIE

IN HET HOOFD-HALSGBIED

Een dierexperimenteel onderzoek

INTRA-ARTERIELE KANKERCHEMOTHERAPIE IN HET HOOFD-HALSGBIED

P.F. Schouwenburg

P.F. Schouwenburg

INTRA-ARTERIELE KANKERCHEMOTHERAPIE

IN HET HOOFD-HALSGBIED

Een dierexperimenteel onderzoek

P.F. Schouwenburg

INTRA-ARTERIAL CANCER CHEMOTHERAPY

OF THE HEAD AND NECK

An animal model study

VRIJE UNIVERSITEIT TE AMSTERDAM

INTRA-ARTERIELE KANKERCHEMOTHERAPIE

IN HET HOOFD-HALSGBIED

Een dierexperimenteel onderzoek.

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT

ter verkrijging van de graad van doctor in de geneeskunde
aan de Vrije Universiteit te Amsterdam,
op gezag van de rector magnificus Dr. D.M. Schenkeveld,
hoogleraar in de faculteit der letteren,
in het openbaar te verdedigen
op donderdag 15 juni 1978 te 13.30 uur
in het hoofdgebouw der universiteit, De Boelelaan 1105

door

Paul Ferdinand Schouwenburg

geboren te Amsterdam

1978

Promotores: Prof.dr. G.B. Snow

Prof.dr. L.M. van Putten

Coreferenten: Prof.dr. J. van der Meer

Prof.dr. F.J. Cleton

Het onderzoek vond plaats in het Radiobiologisch Instituut TNO te Rijswijk en het Centraal Laboratorium voor Experimentele Geneeskunde van de Vrije Universiteit te Amsterdam. In 1973 werd financiële steun verleend door de Maurits en Anna de Kock Stichting. De technische apparatuur werd vervaardigd in de werkplaats van het RBI-TNO te Rijswijk. De illustraties werden vervaardigd door de Medische Foto-, Film- en Illustratiedienst der Vrije Universiteit en de fotografische afdeling van het Antoni van Leeuwenhoek Ziekenhuis.

Aan mijn ouders

Aan Theresa en Jurriaantje

Hooggeleerde Snow, hooggeachte promotor, Uw daadwerkelijke steun en vele zeer waardevolle adviezen waren van essentieel belang voor de tot stand koming van dit proefschrift. Ongetwijfeld heeft Uw leiding mij ook geïnspireerd tot het beoefenen van de chirurgie van het hoofd-halsgebied en de oncologie daarvan. Ik beschouw het als een voorrecht hierbij Uw grote kennis en vaardigheid tot voorbeeld gehad te hebben, een voorbeeld dat voor mij van een moeilijk te overschatten en blijvende waarde is.

Hooggeleerde Van Putten, hooggeachte promotor, U dank ik voor de gastvrijheid die U mij in Uw laboratorium heeft verleend en de gelegenheid die daarbij is geboden vertrouwd te raken met dier-experimenteel onderzoek en experimentele chemotherapie in het bijzonder. Uw grote kennis van dit onderwerp en Uw hulp bij de bewerking van de resultaten van mijn onderzoek zijn van wezenlijk belang geweest voor de realisatie van dit proefschrift.

Hooggeleerde Van der Meer, hooggeachte coreferent, voor Uw bereidheid dit manuscript te willen lezen en van kritische kanttekeningen te voorzien - hetgeen voor de definitieve inhoud van grote betekenis is gebleken - ben ik U buitengewoon erkentelijk.

Hooggeleerde Cleton, hooggeachte coreferent, Uw opbouwende kritiek en suggesties voor veranderingen in het oorspronkelijke manuscript heb ik zeer gewaardeerd.

Hooggeleerde De Wit, U dank ik voor de gelegenheid welke mij tijdens mijn opleiding tot keel-, neus- en oorarts is geboden om dit onderzoek te verrichten.

Hooggeleerde Barendsen, voor Uw bereidheid experimentele tumoren voor mijn onderzoek ter beschikking te stellen ben ik U dankbaar.

Zeer geleerde Sindram, beste Paul, de heldere presentatie van je onderzoek in 1972 tijdens een refereeravond van de KNO-afdeling van het Academisch Ziekenhuis der Vrije Universiteit, heeft de 'vonk' op mij doen overspringen. De vele plezierige gesprekken die daarna volgden hebben bijgedragen tot het uitkristalliseren van dit dierexperimenteel model dat ik als een voortzetting van jouw zeer verdienstelijke werk beschouw.

Zeer geleerde Cotino, beste Huub, je vindingrijkheid en je bereidheid mij deze ten dienste te stellen is van doorslaggevende betekenis geweest voor de ontwikkeling van een nieuwe catheterisatie-techniek.

Zeer geleerde Van den Bos, beste Gerard, dankzij jouw enthousiaste hulp bij het bestuderen van bloedstroom-veranderingen in de arteria carotis externa is het mogelijk gebleken deze te kwantificeren. Ik ben je hiervoor veel dank verschuldigd.

Voor de vele hulp bij het uitvoeren van de infusies dank ik achter-eenvolgens mej. L.K.J. Idsenga, die mij aan TNO-Rijswijk de eerste beginselen van dierexperimenteel werk bijbracht, de heer J.T.M. van Dort voor zijn assistentie in het Centraal Laboratorium voor Experimentele Geneeskunde, en mej. R. Griffin die met enthousiasme en grote nauwgezetheid de proeven in 1976 in het gelijknamige laboratorium afrondde.

Verder dank ik de volgende personen voor hun hulp en de plezierige samenwerking bij het tot stand komen van deze dissertatie:

De heer drs. H. Lubsen voor het maken van fotografische opnamen door de microscoop, de heer S.E. Vervuurt van de Medische Foto-, Film- en Illustratiedienst der Vrije Universiteit voor het fotowerk in het algemeen, mej. A.C. Alta van de fotografische afdeling van het Antoni van Leeuwenhoek Ziekenhuis voor de grafieken en illustraties.

Ettelijke versies van dit proefschrift werden met zorg uitgetypt door mej. T.H.M. de Jong, secretaresse van de KNO-afdeling van het Academisch Ziekenhuis der Vrije Universiteit. Tevens wil ik mej. G.E. Sap en mej. M.J. van Waegeningh danken voor de assistentie welke zij bij het typewerk hebben verleend.

Het Bestuur van de Maurits en Anna de Kock Stichting ben ik zeer erkentelijk voor de financiële steun die het mij in het kritische eerste jaar van het onderzoek toezegde.

Inleiding.....	
HOOFDSTUK I Chemotherapie van hoofd-halstumoren bij de mens ..	17
I.1. Inleiding	17
I.2. Intra-arteriële chemotherapie	18
I.3. Enkelvoudige ('single-agent') chemotherapie	20
3.a Methotrexaat	21
3.b Bleomycine	24
3.c 5-Fluorouracil	26
I.4. Gecombineerde ('multiple-drug') chemotherapie	27
4.a Systemische toediening	27
4.b Intra-arteriële toediening	30
I.5. Combinatie met radiotherapie en chirurgie	32
I.6. Samenvatting	36
I.7. Vraagstellingen	38
HOOFDSTUK II Ontwikkeling van het diermodel	41
II.1. Inleiding	41
II.2. Voorwaarden waaraan het diermodel moet voldoen	41
2.a Algemeen	41
2.b Keuze van het proefdier	42
2.c Keuze van de tumor	42
2.d Keuze van cytostatica	45
2.e Catheterisatietechniek	47
II.3. Occlusieve catheterisatie van de arteria carotis communis	47
3.a Beschrijving van het occlusieve intra-arteriële catheterisatiemodel	47

3.b Evaluatie van het occlusieve intra-arteriële catheterisatiemodel	50
1. de circulatie in het stroomgebied van de arteria carotis externa	50
2. doorgankelijkheid van het infusiesysteem	54
3. fixatie infusiesysteem	56
II.4. Ontwikkeling van een nieuw intra-arterieel infusie-model bij de rat	56
4.a Inleiding	56
4.b Catheterisatietechniek	57
4.c Het infusiesysteem	58
HOOFDSTUK III Definitieve uitvoering van het diermodel	62
III.1. Het proefdier	62
III.2. De tumor	63
III.3. De cytostatica	65
3.a Methotrexaat (MTX)	65
3.b Bleomycine (BLM)	67
3.c 5-Fluorouracil (5-FU)	68
III.4. Transplantatietechniek	69
III.5. Operatietechniek	75
5.a Pre-operatieve voorbereidingen	75
5.b Operatie	78
5.c Aansluiting infusiesysteem	96
III.6. Praktische begeleiding van de infusie	97
HOOFDSTUK IV Resultaten	100
IV.1. Selectie criteria	100
IV.2. Toxiciteit	101
2.a Lokaal	101
2.b Algemeen	101

IV.3. Indeling behandelingsschema's	101
IV.4. Resultaten van enkelvoudig toegediende cytostatica gedurende 7 dagen	102
4.a Continue intra-arteriële infusie van BLM	102
4.b Continue intra-arteriële infusie van 5-FU	104
4.c Continue intra-arteriële infusie van MTX	107
IV.5. Toediening van een combinatie van cytostatica gedurende 7 dagen	109
5.a Intra-arteriële combinatiebehandeling van BLM, MTX en 5-FU	109
5.b Intra-arteriële sequentiële behandeling van BLM, MTX en 5-FU	110
5.c Intra-arteriële sequentiële intermitterende behandeling van BLM, MTX en 5-FU	111
5.d Enkele ervaringen met andere intra-arterieel toegediende schema's	113
1. combinatie en sequentiële behandeling van BLM en MTX	113
2. sequentiële behandeling van BLM, MTX en 5-FU met toediening binnen 15 minuten	114
3. sequentieel intermitterende toediening van een hoge dosis BLM gevolgd door lage doses MTX en 5-FU	115
4. intermitterende toediening van BLM	116
HOOFDSTUK V Beschouwing en conclusies	118
HOOFDSTUK VI Samenvatting/Summary	128
HOOFDSTUK VII Literatuuropgave	134

Kankerchemotherapie heeft de laatste 20 jaar snel aan betekenis gewonnen en bewees o.a. bij de behandeling van Burkitt's lymfoom (Burchenal, 1966), acute lymfoblastenleukemie en de ziekte van Hodgkin haar grote waarde. Ook sommige solide tumoren worden in toenemende mate met succes chemotherapeutisch behandeld, zoals het embryonaal rhabdomyosarcoom, Wilms tumor, Ewing sarcoom, chorio-epitheloom, retinoblastoom, osteogeen sarcoom en testistumoren. Ook het mammacarcinoom is in sommige gevallen voor chemotherapie - en vooral gecombineerde chemotherapie - gevoelig gebleken. De resultaten welke met chemotherapie bij solide tumoren worden geboekt zijn echter tot op heden minder indrukwekkend dan van bijvoorbeeld de maligne lymfomen en acute lymfoblastenleukemie.

De belangstelling voor chemotherapie bij de behandeling van tumoren in het hoofd-halsgebied is vooral door de publikaties van Sullivan (1959) en Huseby (1962) gewekt. Deze tumoren nemen in de oncologie een bijzondere plaats in, omdat zij doorgaans beperkt blijven tot de primaire localisatie en de regionale kliergebieden, terwijl metastasering op afstand gelukkig slechts bij een kleine minderheid van de patiënten voorkomt en dan vrijwel altijd pas laat in het verloop van de ziekte. Desondanks liggen de 5-jaars overlevingspercentages na optimaal uitgevoerde chirurgie en/of radiotherapie voor alle localisaties en stadia tezamen nog onder de 50%. Het is onwaarschijnlijk dat van chirurgie en/of radiotherapie in de nabije toekomst belangrijke verdere verbeteringen in de behandelingsresultaten zijn te verwachten.

De vraag rijst of chemotherapie, opgenomen in een curatief opgezette combinatiebehandeling met chirurgie en/of radiotherapie de prognose

kan verbeteren. Tot op heden is nimmer door middel van 'controlled studies' bewezen dat toevoeging van chemotherapie aan chirurgie of radiotherapie de overleving gunstig beïnvloedt, hoewel enkele auteurs sterke aanwijzingen lijken te hebben (Richard en Snow, 1976).

Weinig is bekend over de optimale weg van toediening en het te kiezen doseringsschema van cytostatica bij hoofd-halstumoren. De intra-arteriële toediening is waarschijnlijk superieur aan de systemische behandeling met cytostatica. Hierbij wordt van de hypothese uitgegaan dat een intra-arterieel toegediend cytostaticum vooral in het eerste capillaire bed wordt vastgehouden. De selectief doorstroomde tumor zou derhalve een hogere concentratie van het farmacon ontvangen dan andere - niet regionaal geïnfundeerde - weefsels van het lichaam, hoewel dit nimmer bij de mens is bewezen. Dierexperimenteel werk (Sindram, 1973) toonde echter een duidelijke winst aan wanneer methotrexaat intra-arterieel aan een rat met geïmplanteerde experimentele tumoren werd toegediend. Deze diermodelstudie komt echter niet in alle opzichten overeen met de techniek die bij de mens wordt toegepast. Behalve van methotrexaat is het ook van andere veel in het hoofd-halsgebied gebruikte cytostatica wenselijk te weten of intra-arteriële toediening superieur is aan systemische behandeling.

Het toedieningsschema van cytostatica is van groot belang gebleken. Voor methotrexaat bijvoorbeeld is intermitterende toediening duidelijk superieur gebleken aan continue toediening (Kramer, 1971; Goldsmith en Carter, 1975); men kan zich afvragen of dit ook voor andere cytostatica geldt.

Wellicht kunnen met combinaties van cytostatica betere resultaten worden verkregen dan met enkelvoudige chemotherapie; hierbij doet zich o.a. de vraag voor of de cytostatica beter gelijktijdig dan

wel na elkaar (sequentieel) kunnen worden toegediend. Enkele recente publicaties melden opvallend goede resultaten van combinatie chemotherapie bij hoofd-halstumoren.

De onzekerheid ten aanzien van de optimale weg van toediening van cytostatica en het te kiezen behandelingsschema heeft de behoefte doen ontstaan aan een dierexperimenteel model, waarin wellicht een aantal van de vraagstellingen kan worden beantwoord. In dit proefschrift wordt nader op de geschetste problematiek ingegaan, waarna uitvoering en resultaten van een dierexperimenteel model zullen worden besproken en geïnterpreteerd.

CHEMOTHERAPIE VAN HOOFD-HALSTUMOREN BIJ DE MENS

1.1. Inleiding.

Heden staan ons enkele cytostatica ter beschikking die op bepaalde wijze toegedicnd en gedoseerd bij een belangrijk percentage van de patiënten indrukwekkende tumorregressies teweeg brengen. Deze anti-tumoreffecten zijn echter vrijwel steeds van korte duur, waardoor de palliatieve waarde beperkt is. Veel werk is en wordt verricht ten aanzien van de vraag of het zinvol is chemotherapie in een eerder stadium van de ziekte, met in principe curatieve opzet, toe te voegen aan de gangbare behandelingsmethoden, chirurgie en bestraling.

Het onderstaande overzicht beoogt een indruk te geven van hetgeen gaande is op het gebied van de chemotherapie van hoofd-halstumoren. Hoewel enkelvoudige, 'single-agent', chemotherapie nog altijd meer wordt toegepast dan gecombineerde, 'multiple-drug', chemotherapie, wordt bij de bespreking van de literatuurgegevens meer aandacht besteed aan de gecombineerde chemotherapie in verband met de relatie welke deze heeft - zoals later zal blijken - tot het onderhavige experimentele onderzoek. In dit hoofdstuk zullen niet de werkingsmechanismen van de verschillende cytostatica worden vermeld; in hoofdstuk III worden de werkingsmechanismen van bleomycine, 5-fluorouracil en methotrexaat beknopt weergegeven.

Tenzij anderszins vermeld heeft het onderstaande uitsluitend betrekking op de in dit gebied veruit meest voorkomende tumor, het plaveiselcelcarcinoom, uitgaande van de slijmvliezen van de bovenste lucht-

of voedselweg. Van dit tumortype zijn geen uitscheidingsprodukten bekend, wel zijn zij over het algemeen goed zicht- en voelbaar. Nauwkeurige meting van het tumorvolume is echter niet mogelijk. Desondanks is het gebruikelijk de reactie van de tumor op de chemotherapie uit te drukken in een percentage volumereduktie en alleen dan van een goede regressie te spreken wanneer de volumereduktie meer dan 50% bedraagt.

1.2. Intra-arteriële chemotherapie

De intra-arteriële infusie van cytostatica neemt in het hoofd-halsgebied een belangrijke, zij het omstreden plaats in. De ratio van de intra-arteriële infusie berust op de hypothese dat van een intra-arterieel toegediende dosis cytostaticum een belangrijk gedeelte in het eerste capillaire net gefixeerd zal worden, zodat ter plaatse van de tumor een hogere concentratie bereikt wordt dan in de overige lichaamsweefsels. De toepassing bij de mens is beperkt gebleven tot enkele stroomgebieden en dan vooral tot dat van de arteria carotis externa. Dit is niet verwonderlijk wanneer men bedenkt dat tumoren in het hoofd-halsgebied veelal hun gehele bloedvoorziening ontvangen vanuit dit ene op eenvoudige wijze te canuleren vat, terwijl in andere lichaamsgebieden de vascularisatie van tumoren veelal complexer is, waarbij canulatie ook technisch vaak problemen met zich mee brengt. Bovendien doet zich in het hoofd-halsgebied - meer dan waar ook - veelvuldig het probleem voor van het lokaal-regionair chirurgisch-radiologisch niet te behandelen tumorproces, zonder dat metastasen op afstand kunnen worden aangetoond.

Juist in een dergelijke situatie is in principe een lokale behandelingsmethode als intra-arteriële chemotherapie zinvol.

Er zijn geen 'controlled studies' verricht waarin intra-arteriële

toediening wordt vergeleken met algemene (systemische), bijvoorbeeld intraveneuze toediening. Gezien de relatieve zeldzaamheid en de verscheidenheid van localisatie en uitbreiding van hoofd-hals-tumoren is een dergelijke studie praktisch onuitvoerbaar. Uit twee grote literatuuroverzichten (Bertino e.a., 1975 en Goldsmith en Carter, 1975) betreffende chemotherapie van hoofd-halstumoren blijkt dat bij continue intra-arteriële toediening vaker een meer dan 50% tumorregressie wordt gezien dan bijvoorbeeld bij intraveneuze toediening bij een aantal verschillende toedieningsschema's; voor methotrexaat zijn deze percentages resp. 53% en 40%. Dit laatste percentage bevat zowel de resultaten van continue als intermitterende intraveneuze toediening. Continu intraveneus toegediend methotrexaat geeft echter slechts bij 29% van de patiënten meer dan 50% tumorregressie te zien terwijl dit bij intermitterende toediening bij 50% van de patiënten wordt waargenomen. In de intra-arterieel behandelde groep zijn de complicaties vooral van vasculaire aard (cerebro-vasculair accident), bij de algemene toediening ligt het percentage 'drug-related-death' daarentegen duidelijk hoger. Hoewel intra-arteriële toediening er in deze literatuuroverzichten gunstiger af lijkt te komen dan systemische toediening, wordt door een aantal onderzoekers de winstmarge te gering geacht om deze ingewikkelder wijze van toedienen te rechtvaardigen. Dit standpunt lijkt zeer te billijken, wanneer men slechts incidentele ervaring met intra-arteriële toediening heeft. In centra daarentegen waar deze procedure routine is geworden, blijft men in geselecteerde gevallen hieraan de voorkeur geven boven algemene toediening. Hieronder zal kort worden weergegeven hoe en in welke gevallen wij de methode thans gebruiken.

Sinds beschikt wordt over de zeer flexibele catheter vlg. Richard^x gelukt het vrijwel steeds via de vaak zeer gekronkeld verlopende

^x catheter intra-arteriël Richard, Vygon, code 223-04.

arteria temporalis superficialis de arteria carotis externa te canuleren. De ingreep gebeurt onder plaatselijke verdoving. De positie van de catheter wordt voorts iedere dag gecontroleerd met behulp van de kleurstofinjectie en de eventuele onjuiste ligging gecorrigeerd. Wanneer het echter niet gelukt de catheter zodanig te positioneren dat bij inspuiten van de kleurstof 'patent blue violet' de gehele tumor fraai blauw kleurt en het stroomgebied van de arteria carotis interna niet meekleurt, wordt de catheter verwijderd en nog dezelfde dag begonnen met algemene chemotherapie. De ervaring heeft geleerd dat vooral processen in de mondholte, de infrastructuur van de maxilla en de glandula parotis voor intra-arteriële infusie in aanmerking komen. De methode wordt alleen toegepast bij nog niet eerder behandelde, zeer uitgebreide (T₃) tumorprocessen als eerste onderdeel - dan is de vaatvoorziening nog intact - van een combinatiebehandeling met chirurgie en/of bestraling.

1.3. Enkelvoudige ('single-agent') chemotherapie.

Uit het overzicht van Carter en Soper (1974) blijkt dat van het totale aantal thans ter beschikking staande cytostatica slechts een kleine minderheid op werkzaamheid bij plaveiselcelcarcinomen in het hoofd-halsgebied is getest, terwijl voor het merendeel van de geteste stoffen de gegevens hetzij kwantitatief, hetzij kwalitatief, onvoldoende zijn om een uitspraak over de gevoeligheid mogelijk te maken. Alleen voor methotrexaat en bleomycine is duidelijk werkzaamheid aangetoond. Voor enkele andere stoffen, zoals 5-fluorouracil, cyclofosfamide, doxorubicine (Adriamycin^R) en vinblastine

bestaan aanwijzingen voor mogelijke activiteit. Deze bespreking zal zich beperken tot methotrexaat, bleomycine en 5-fluorouracil.

1.3.a Methotrexaat.

Algemene toediening.

Methotrexaat is het meest effectieve cytostaticum in het hoofd-halsgebied. Opvallend en typerend voor de moeizame weg van 'trial and error' welke in de kliniek veelal moet worden afgelegd is het feit dat het circa 20 jaar geduurd heeft sinds methotrexaat in 1947 werd gesynthetiseerd vóór een goed bruikbaar doseringsschema langs algemene weg werd vastgesteld. Aanvankelijk was het gebruikelijk methotrexaat dagelijks en dan minstens 5 dagen achtereen per os of intraveneus toe te dienen. Intermitterende intraveneuze toediening, variërend van 1 tot 2 maal per week tot 1 maal per 2 weken, van gematigde doses, bijvoorbeeld 25 tot 50 mg methotrexaat betekende een doorbraak. Zelfs bij uitgebreide anderszins reeds behandelde tumoren wordt bij minstens 1/3 van de patiënten meer dan 50% tumorregressie waargenomen, terwijl een dergelijk doseringsschema opvallend goed verdragen wordt, mits de nierfunctie binnen de norm ligt. De laatste jaren is een reeks publikaties verschenen (o.a. Djerassi, 1975; Penta, 1975; Pitman, 1975) waarin mogelijk iets gunstiger ervaringen worden beschreven van de intermitterende toediening van hoge tot zeer hoge doses methotrexaat - variërend van 400 mg tot meer dan 1 gram - gevolgd door toediening van het antidotum leucovorin in hoge dosering, de zgn. 'leucovorin rescue'. Een dergelijke behandeling is zeer kostbaar en dient veelal klinisch te gebeuren. Het lijkt dan ook verstandig voor algemeen gebruik wat dit betreft de resultaten af te wachten van een 'controlled study' welke in de Verenigde Staten

door de Eastern Co-operative Oncology Group wordt uitgevoerd en waarin verschillende van de hierboven genoemde schema's met elkaar worden vergeleken.

Hieronder volgen enkele doseringsschema's waar wij zelf gunstige ervaringen mee hebben. Wanneer palliatie wordt beoogd bij chirurgisch-radiologisch niet meer te behandelen patiënten is aan te bevelen: tweemaal per week 25-50 mg methotrexaat intraveneus of intramusculair, waarbij steeds 24 uur na de methotrexaat-injectie 6 mg leucovorin intramusculair wordt toegediend. Wij geven de voorkeur aan intramusculaire toediening van methotrexaat: de resultaten blijken dezelfde, terwijl dan de toediening door een wijkverpleegster kan gebeuren. Of 25 dan wel 50 mg wordt gegeven hangt af van de leeftijd, van de algemene conditie van de patiënt en hoe de leucocyten en trombocyten in het perifere bloed (welke eenmaal per 1-2 weken worden gecontroleerd) zich gedragen; meestal wordt per keer 25 mg gegeven. Wanneer na 3 weken geen duidelijke tekenen van tumorregressie worden waargenomen, is het niet zinvol deze therapie te continueren. Indien dit wel het geval is wordt doorgegaan tot het tumorproces weer progressief wordt; meestal is dit na drie tot vier maanden.

Wanneer patiënten zoals hierboven bedoeld zijn opgenomen, gebruiken wij het volgende hoge-dosis-schema: 400 mg methotrexaat intraveneus, te infunderen in 24 uur, direkt gevolgd door 75 mg leucovorin intraveneus, te infunderen in 12 uur en dat weer gevolgd door om de 6 uur, in totaal 4 maal, 12 mg leucovorin intramusculair. Dit schema wordt om de 5 dagen nog één- of tweemaal herhaald. Wanneer na deze kuren geen evidente tumorregressie wordt gezien is het niet zinvol methotrexaat te continueren. Is dit wel het geval dan wordt op poliklinische basis overgegaan op het eerstgenoemde schema. Beide schema's worden bij goede nierfunctie uitstekend verdragen en geven

dan ook bij ruim 1/3 van de patiënten een zeer goede palliatie van circa 3 tot 4 maanden. Slechts bij een kleine minderheid van de patiënten wordt een hinderlijke stomatitis waargenomen.

Intra-arteriële toediening.

Nog altijd is gebruikelijk het reeds in 1959 door Sullivan e.a. beschreven schema: continue intra-arteriële infusie van 50 mg methotrexaat per dag met gelijktijdige toediening van 4 x 6 mg leucovorin intramusculair per 24 uur. Richard e.a. (1973) hebben duidelijk aangetoond dat dit schema superieur is aan dat van een veel lagere dosering methotrexaat zonder leucovorin. Met dit schema van Sullivan wordt in het algemeen 7 tot 10 dagen doorgegaan. Vrijwel steeds is dan beenmergdepressie de reden dat gestopt moet worden. De slijmvliezen in het doorstroomde gebied vertonen een lichte tot matige mucositis. Deze behandeling wordt - zoals reeds hierboven uiteengezet - alleen bij nog onbehandelde patiënten toegepast in het kader van de hierna nog te bespreken combinatiebehandeling met chirurgie of bestraling. Gezien de bij algemene toediening gebleken superioriteit van intermitterende boven continue toediening is het zeer de vraag of bij de intra-arteriële toediening van methotrexaat wel het optimale doseringsschema is vastgesteld.

Intrigerend is de vraag waarom ruim 1/3 tot circa de helft van de plaveiselcelcarcinomen in het hoofd-halsgebied wel en de rest niet goed op methotrexaat reageert. Er is nimmer een duidelijk verband aangetoond met de differentiatiegraad van het proces. Wel is er samenhang met de localisatie van de tumor: mondholte- en oropharynxtumoren doen het duidelijk beter dan larynx-, hypopharynx- en nasopharynxtumoren. Hiermee zijn echter de verschillen in reactie binnen

één localisatie niet verklaard; bij sommige patiënten met een gering aantal leucocyten en/of trombocyten kan methotrexaat soms niet hoog genoeg gedoseerd worden waardoor de indruk wordt gewekt dat de tumor resistent is. Het zou een grote aanwinst betekenen wanneer een methode beschikbaar zou komen waarmee men in korte tijd geïnformeerd kon raken over de vraag of de betreffende tumor wel of niet gevoelig is voor methotrexaat.

Methotrexaat is een van de weinige cytostatica waarbij bepaling van serum- en urinespiegels zinvol is omdat het vrijwel niet gemetaboliseerd wordt.

Door verbeteringen van de bepalingsmethoden is het thans goed mogelijk in een klinisch-chemisch laboratorium dat zich hierop toelegt, methotrexaatspiegels in serum en urine te bepalen.

Dit is een belangrijke aanwinst gebleken bij patiënten bij wie ernstige toxische reacties verwacht kunnen worden (Versluis e.a., 1978).

Wanneer namelijk de serum-spiegel van methotrexaat 48 uur na het einde van de toediening boven een bepaalde kritische waarde ligt, kunnen toch door de dosering en de duur van de 'leucovorin rescue' aan te passen ernstige schadelijke bijwerkingen voorkomen worden. Tevens heeft men hiermee een hulpmiddel in handen dat klinisch-farmacologisch onderzoek met methotrexaat verantwoord maakt.

Het is dan ook te verwachten dat binnen afzienbare tijd betere doseringsschema's dan de tot nu toe gebruikelijke zullen worden vastgesteld.

I.3.b Bleomycine.

Algemene toediening.

Bleomycine geeft bij ten hoogste 15-20% van de patiënten met een plaveiselcelcarcinoom in het hoofd-halsgebied een meer dan 50%

tumorregressie (Goldsmith en Carter, 1975), welke bovendien over het algemeen slechts enkele weken aanhoudt, en is dus inferieur aan methotrexaat. Hoewel het de bijzondere eigenschap heeft vrijwel niet toxisch te zijn voor het beenmerg - bleomycine is op grond hiervan aantrekkelijk voor gecombineerde chemotherapie! - heeft het een geheel eigen patroon van bijwerkingen waarvan interstitiële longfibrose de ernstigste is. Ook de huidverschijnselen, de extreme vermoeidheid en de algemene malaise moeten niet onderschat worden. Deze bijwerkingen zijn onder andere afhankelijk van de cumulatieve dosis en de leeftijd van de patiënt. Een en ander maakt dat bleomycine ons inziens als laatste palliatie slechts in uitzonderingsgevallen is te overwegen, bijvoorbeeld bij een jeugdige patiënt met een goed gedifferentieerd plaveiselcelcarcinoom, maar ook dan pas wanneer behandeling met methotrexaat hetzij gefaald heeft, hetzij niet langer effect sorteert (Meijer en Snow, 1976). Gezien het feit dat het enkele weken duurt voor de eerste tekenen van tumorregressie zich manifesteren, is het middel langs algemene weg toegediend ook ongeschikt voor toepassing als eerste onderdeel van een combinatiebehandeling met chirurgie of bestraling, omdat dit voor 80% van de patiënten een onverantwoord lang uitstel van de behandeling zou betekenen.

Het is gebruikelijk tweemaal per week 15 mg intramusculair toe te dienen (Bij intraveneuze toediening zou de kans op longcomplicaties groter zijn). De minimale totaaldosis bedraagt 150 mg. Zijn er dan nog geen tekenen van tumorregressie, dan is het niet zinvol de behandeling voort te zetten. De maximale totaaldosis moet ons inziens de volgende grenzen niet overschrijden: tot de leeftijd van 60 jaar 300 mg, tussen de 60 en 70 jaar 250 mg en tussen de 70 en 80 jaar 200 mg. Bij patiënten ouder dan 80 jaar is toepassing gecontraïndiceerd.

Intra-arteriële toediening.

Opmerkelijk is dat hierbij vrijwel geen longcomplicaties worden gezien (Huntington e.a., 1973). Het is zeer waarschijnlijk dat bleomycine intra-arterieel wat betreft antitumorwerking gelijkwaardig is aan methotrexaat, gezien de voorlopige resultaten van een onderzoek dat dienaangaande wordt verricht binnen de European Organisation for Research on Treatment of Cancer (EORTC). Toxische effecten op huid en slijmvlies in het doorstroomde gebied zijn echter ernstig, zodat enkele weken - duidelijk langer dan bij methotrexaat - gewacht moet worden met de te volgen bestraling of operatie. Alleen bij patiënten met bijvoorbeeld een laag aantal leucocyten en/of trombocyten geven wij de voorkeur aan bleomycine boven methotrexaat. De dosering bedraagt: 15 mg bleomycine continu intra-arterieel per dag geïnfundeerd tot een totaaldosis van minimaal 225 mg en maximaal 300 mg.

1.3.c 5-Fluorouracil.

Uit het al eerder vermelde overzicht van Goldsmith en Carter (1975) blijkt dat voor een groep van 118 met 5-fluorouracil behandelde patiënten met een plaveiselcelcarcinoom in het hoofd-halsgebied slechts bij 15% van de patiënten reactie van de tumor op 5-fluorouracil werd waargenomen. Enkele studies wijzen echter op een zeer hoge tumorrespons bij intra-arteriële toediening van 5-fluorouracil tot zelfs 75% toe (Couture, 1968 en Johnson, 1965). Overigens is van belang te vermelden dat 5-fluorouracil intra-arterieel toegediend naar onze ervaring goed werkzaam kan zijn bij adenocarcinomen en aanverwante tumoren zoals het 'adenocystic' carcinoom van grote en kleine speekselklieren.

1.4. Gecombineerde ('multiple-drug') chemotherapie

1.4.a Systemische toediening.

Het succes dat met combinatie van cytostatica bij de behandeling van lymfatische leukemie en morbus Hodgkin werd verkregen o.a. door de toepassing van het VAMP-protocol (vincristine, methotrexaat = amethopterin, 6-Mercaptopurine en Prednison) en later het MOPP-schema (stikstof mosterd = Mechlorethamine, vincristine = Oncovin^R, Procarbazine en Prednison) heeft de belangstelling voor de zgn. 'multiple-drug' chemotherapie bij solide tumoren gewekt. Combinaties van cytostatica hebben bij de behandeling van het embryonaal rhabdomyosarcoom in het hoofd-halsgebied een duidelijke verbetering van de prognose bewerkstelligd (Donaldson e.a. 1973). Ditzelfde geldt voor de behandeling van het Ewing-sarcoom waar radiotherapie in combinatie met cytostatica wordt toegepast (Hustu e.a., 1972, Rosen e.a., 1974 en Jaffé e.a., 1974).

Combinatiechemotherapie is effectief gebleken bij de behandeling van mammacarcinoom. Canellos e.a. (1974) toonden bij deze tumor aan dat combinatiechemotherapie een meer dan palliatieve betekenis heeft. In een overzichtsartikel publiceerden Broder en Tormey (1974) de resultaten van combinatie chemotherapie bij het gemetastaseerd mammacarcinoom. Zowel uit de gerandomiseerde als niet gerandomiseerde studies bleek met combinatiechemotherapie een belangrijke therapeutische winst te worden geboekt: de tumorrespons is met combinatiechemotherapie gemiddeld 2 tot 4 maal groter dan met de enkelvoudige behandeling.

Deze studies verschaffen geen voldoende gegevens om een uitspraak te doen over het aantal en de soort cytostatica waarmee een optimale tumorrespons kan worden verkregen. Speciaal daartoe opgezette 'clinical trials' kunnen hierover waarschijnlijk meer informatie verschaffen.

Hoewel slechts beperkte ervaring met combinatiechemotherapie bij de behandeling van tumoren in het hoofd-halsgebied bestaat, zijn er toch aanwijzingen dat een juist opgezet behandelingsschema ook hier goede resultaten oplevert. Uit literatuurgegevens van 13 auteurs die in totaal 276 patiënten met tumoren in het hoofd-halsgebied behandelden komt naar voren dat bij 46% van de patiënten een tumorregressie van meer dan 50% werd waargenomen; het percentage complete remissies bedroeg 3. Dit resultaat is superieur aan dat van methotrexaat intraveneus alléén. Het aantal patiënten in iedere individuele serie is doorgaans te klein om een betrouwbare conclusie toe te laten. Van enkele publicaties volgen hieronder de belangrijkste resultaten.

Opvallend zijn de resultaten van Price e.a. (1975) die met sequentiële systemische toediening van 7 cytostatica - vincristine, doxorubicine = Adriamycine^R, bleomycine, methotrexaat, 5-fluorouracil, hydroxyurea, mercaptopurine - bij 70% van de patiënten een meer dan 50% tumorreductie vonden. Uitgangspunt hierbij is een korte behandelingscyclus van maximaal 36 uur waarbinnen de cytostatica worden toegediend. Deze cyclus wordt iedere 3 weken herhaald. Price bepleit kortdurende toediening teneinde de beenmergbeschadiging te beperken.

Lokich en Frei (1974) behandelden 30 patiënten met gemetastaseerde tumoren van wie zes een tumor in het hoofd-halsgebied hadden.

Hiertoe werden methotrexaat en bleomycine 2 maal per week gedurende 6 weken toegediend. Eventueel kon hierna met methotrexaat worden doorgegaan. Vier van de zes patiënten vertoonden meer dan 50% tumorregressie van wie één een complete remissie. De auteurs beoordeelden dit schema als mogelijk superieur aan enkelvoudige chemotherapie. De heftige toxiciteit is hierbij echter wel een groot bezwaar.

Pouillart e.a. (1973) behandelden naast een aantal patiënten met maligne lymforeticulaire aandoeningen 53 patiënten met solide tumoren waarvan 11 met een proces in het hoofd-halsgebied. De resultaten van deze laatste groep zijn opvallend. Alle patiënten kregen een combinatie van vincristine, methotrexaat en bleomycine. Bij tien van de elf patiënten werd meer dan 50% tumorregressie gemeten, van wie twee volledige tumorregressie vertoonden.

Dowell e.a. (1975) behandelden 32 patiënten met een schema van 5 cytostatica - 5-fluorouracil, methotrexaat, vincristine, cyclofosfamide, prednison - waarvan 44% meer dan 50% tumorreductie te zien gaven. Een groep van 13 patiënten werd met een combinatie van 4 cytostatica - 5-fluorouracil, methotrexaat, vincristine, cyclofosfamide - behandeld met belangrijk minder goede resultaten. Opvallend echter is dat in de beste groep de duur van de tumorrespons slechts gemiddeld 22 maanden bedraagt (er is door de auteur geen definitie van deze tijdsduur gegeven).

Broquet e.a. (1974) pasten evenals Lokich en Frei een combinatie van methotrexaat en bleomycine toe volgens een tweemaal per week intraveneus toegediende injectie. Bij 9 van de 15 patiënten werd meer dan 50% tumorregressie geconstateerd. Ook Broquet vermeldt de opvallende toxiciteit.

Livingstone e.a. (1976) beschreven de behandeling van 28 patiënten die met een schema van 6 cytostatica werden behandeld. Deze combinatie bevatte cyclofosfamide, vincristine, bleomycine, methotrexaat, doxorubicine (= Adriamycine^R), methyl CCNU. In principe duurde dit behandelingsschema in totaal 36 weken. 12 van de 28 patiënten (43%) vertoonden meer dan 50% tumorregressie waarvan 5 (18%) een volledige tumorregressie bereikten. De gemiddelde overleving van de patiënten waarvan de tumoren goed op de behandeling reageerden bedroeg 38 weken. Dit is gerekend vanaf het begin van de chemo-

therapie. De gemiddelde overleving voor de hele groep behandelde patiënten bedroeg 25 weken, hetgeen beter is dan met methotrexaat of andere enkelvoudige cytostatica is bereikt. De auteur stelt dat het gemiddelde effect op het tumorvolume niet belangrijk beter is dan met enkelvoudige cytostatische behandeling bereikt wordt.

Gunstige overlevingsverlenging maakt dit schema mogelijk geschikt voor palliatieve doeleinden.

O'Connor e.a. (1977) pasten een schema van vincristine, bleomycine en methotrexaat (het zgn. 'VBM'-schema) toe in combinatie met bestraling bij patiënten met een uitgebreid plaveiselcelcarcinoom in het hoofd-halsgebied. Hoewel de lokale toxiciteit van de behandeling grote problemen opleverde bleek de overleving na 24 maanden gemiddeld 61% te zijn. De indruk bestaat dat dit combinatieschema de radiotherapie heeft gepotentieerd en tevens het optreden van metastasen op afstand heeft teruggedrongen of uitgesteld. Dit onderzoek van O'Connor e.a. is in het bijzonder van belang omdat het hier een geplande combinatie van chemotherapie en radiotherapie betrof bij nog niet eerder behandelde patiënten met uitgebreide, vaak gemetastaseerde, tumorprocessen; bij alle eerdere onder I.4.a genoemde studies betrof het nl. chirurgisch/radiotherapeutisch uitbehandelde patiënten.

I.4.b Intra-arteriële toediening.

De vraag rijst of intra-arteriële toediening van een combinatie met cytostatica hetzij gelijktijdig, hetzij sequentieel een verdere verbetering van de resultaten kan bewerkstelligen. Slechts enkele publikaties vermelden I.A. toegediende combinaties van cytostatica in het hoofd-halsgebied. De publikaties van Nervi e.a. (1969), Freckman (1972), Bilder en Hornova (1973), Cruz e.a. (1974), Auersperg e.a. (1976) en Donegan en Harris (1976) tonen aan dat

van de in totaal 345 patiënten die met een combinatie van cytostatica zijn behandeld bij 60% meer dan 50% tumorreductie wordt waargenomen. Hiervan werd bij 47 patiënten (14%) volledige tumorregressie bereikt. Hieronder volgen de belangrijkste resultaten.

Nervi e.a. vermelden 2 schema's, nl. een sequentie van methotrexaat, 5-fluorouracil en vinblastine en een zelfde schema waarin vinblastine vervangen is door mitomycine C. Met het schema waarin vinblastine is opgenomen wordt bij 13 van de 18 patiënten meer dan 50% tumorreductie behaald; met het andere schema is dat bij 27 van de 45 patiënten het geval.

Auersperg e.a. gebruiken een sequentie van bleomycine, vinblastine en methotrexaat en in de laatste publikatie wordt een meer dan 50% tumorreductie bij 37 van de 45 patiënten (82%) vermeld. Achttien patiënten (40%) gaven een volledige tumorregressie te zien. De intra-arteriële combinatiebehandeling werd vooral gereserveerd voor die gevallen waar met intraveneuze toediening geen voldoende regressie werd bereikt en voor patiënten die in slechte algemene conditie verkeerden.

Freckman behandelde 165 patiënten volgens 11 verschillende schema's. Zijn serie bevat zowel 5-fluorouracil en methotrexaat alléén als 5-fluorouracil in combinatie met 1 tot 3 andere cytostatica. Het voert te ver om alle resultaten van deze schema's te behandelen, temeer daar het aantal patiënten in enkele groepen te gering is om conclusies toe te laten. Wel lijken de schema's met 3 of 4 cytostatica de beste resultaten te geven. Bij de toediening van (1) 5-fluorouracil, methotrexaat en vinblastine, (2) 5-fluorouracil, methotrexaat en cyclofosfamide, (3) 5-fluorouracil, methotrexaat, vinblastine en cyclofosfamide en (4) 5-fluorouracil, methotrexaat, cyclofosfamide en dactinomycine, wordt meer dan 50%

tumorregressie bij 53 tot 60% van de patiënten bereikt.

Cruz e.a. dienden een mengsel van 5-fluorouracil, methotrexaat en vinblastine toe gedurende een periode van 5-16 dagen op geleide van de toxiciteit, waarbij 31 van de 41 patiënten meer dan 50% tumorregressie vertoonden (76%). Achttien patiënten (44%) vertoonden meer dan 75% tumorregressie en bij zes (15%) werd 100% tumorregressie bereikt.

Donegan en Harris gebruikten een mengsel van 5-fluorouracil en methotrexaat met daarnaast 1 maal per dag een injectie bleomycine. Negen van de 15 patiënten (60%) behaalden meer dan 50% tumorregressie waarvan bij 3 patiënten (20%) volledige tumorregressie werd waargenomen.

I.5. Combinatie met radiotherapie en chirurgie.

De prognose van het plaveiselcelcarcinoom van de bovenste luchten-voedselweg wordt vooral bepaald door de lokale uitbreiding en regionale lymfekliermetastasering; de hematogene metastasering is van ondergeschikt belang. Desondanks wordt met behulp van optimale chirurgie en/of radiotherapie niet meer dan de helft van de patiënten genezen. Gezien de beschikbaarheid van enkele werkzame cytostatica lag het voor de hand, bij nog onbehandelde patiënten met een slechte prognose, chemotherapie toe te voegen aan de gebruikelijke behandelingsmethoden. Deze zogenaamde adjuvant-chemotherapie kan in principe een van de drie volgende mogelijkheden beogen:

1. initiële tumorverkleining,
2. potentiëring van bestraling,
3. onschadelijk maken van micrometastasen op afstand (of microscopische tumorresten lokaal of regionair).

Bij de meeste menselijke tumoren, waar adjuvant-chemotherapie wordt toegepast betreft het oogmerk de derde mogelijkheid. De over het algemeen gecombineerde chemotherapie wordt dan kort na operatie of bestraling begonnen en langdurig in de vorm van intermitterende kuren voortgezet. In het hoofd-halsgebied bestaan hiermee geen ervaringen van betekenis. Toch is het zeer te overwegen bij geselecteerde patiënten met een grote kans op metastasering beneden het niveau van de claviculae - bijvoorbeeld bij patiënten bij wie bij pathologisch-anatomisch onderzoek van het halsklierresectiepreparaat de laagste halsklieren positief blijken of bij wie tumorgroei in bloedvaten wordt vastgesteld - een dergelijke chemotherapie toe te passen. Binnen de EORTC is kortgeleden een 'clinical trial' in deze zin van start gegaan bij geselecteerde patiënten met een oropharynxcarcinoom.

Meer gegevens zijn beschikbaar ten aanzien van de tweede hierboven genoemde mogelijkheid, die van eventuele potentiëring van radiotherapie. 'Controlled studies' zijn verricht met onder andere methotrexaat, 5-fluorouracil, bleomycine en hydroxycarbamide, waarbij de resultaten van bestraling alléén werden vergeleken met de gelijktijdige combinatie van één van deze cytostatica en radiotherapie. In het algemeen werd van de combinatie geen beter effect gezien, terwijl de beschadiging van de normale weefsels in de directe omgeving van het tumorgebied vaak zeer ernstig was. Alleen Gollin e.a. (1972) zagen bij gelijktijdige combinatie van fluorouracil en bestraling een significante verlenging van de gemiddelde overlevingsduur ten opzichte van alleen met bestraling behandelde patiënten. Opvallend is dat deze correlatie uitsluitend werd vastgesteld voor mondholtcarcinomen en niet voor andere localisaties van plaveiselcelcarcinoom binnen het hoofd-halsgebied. De meeste ervaring met combinatie van chemotherapie en radiothera-

pie of chirurgie betreft de eerste van de hierboven genoemde mogelijkheden, waarbij zogenaamde initiële tumorverkleining door chemotherapie wordt beoogd en in tweede instantie na een interval van één tot drie weken (de normale weefsels hebben zich dan kunnen herstellen van de schadelijke inwerking van de chemotherapie) wordt bestraald of geopereerd. De chemotherapie staat in de volgorde voorop, omdat men algemeen de ervaring heeft dat chemotherapie effectiever is wanneer de vaatverzorging van de tumor nog niet door bestraling of operatie is verstoord, terwijl omgekeerd van de bij intra-arteriële chemotherapie gebruikelijke cytostatica - bleomycine uitgezonderd - geen nadelige invloeden op de bloedvoorziening zijn aangetoond.

Veruit de meeste ervaring heeft men met de combinatie chemotherapie en radiotherapie, waarbij methotrexaat vrijwel steeds het cytostaticum der keuze was. De gegevens van enkele 'controlled studies' betreffende deze combinatie (voor literatuur hierover wordt verwezen naar de eerder genoemde overzichten van Bertino e.a. (1975), en Goldsmith en Carter (1975)) laten enkele samenvattende opmerkingen toe. Hoewel in drie van de vier studies waar het hier om gaat in de combinatiegroep duidelijk meer complete tumorregressies aan het eind van de behandeling werden waargenomen en zich in het eerste jaar na de behandeling ook minder recidieven in deze groep voordeden, was na 1½ tot 2 jaar 'follow up' geen verschil in overleving meer aantoonbaar tussen beide groepen. Hierbij zij echter aangetekend dat het over het algemeen om patiënten ging met zeer uitgebreide tumorprocessen - vaak met gefixeerde halskliermetastasen - terwijl de samenstelling van de patiëntengroepen wat betreft tumorlocalisatie vrijwel steeds zeer gemengd was; zoals al eerder naar voren is gebracht is de kans dat een bepaald placeiselcelcarcinoom in het hoofd-halsgebied goed op methotrexaat zal

reageren onder andere afhankelijk van de localisatie van de tumor binnen dit gebied. Interessant zijn dan ook de ervaringen van Von Essen e.a. (1968) die patiënten in India met uitsluitend wangcarcinoom betreffen, een in principe voor methotrexaat gunstige localisatie. Wanneer de zeer uitgebreide afwijkingen - Von Essen spreekt zelfs van T₅ - buiten beschouwing worden gelaten, wordt wel een evident verschil in tweejaarsoverleving gezien ten gunste van de combinatiebehandeling.

Concluderend zou men ten aanzien van de sequentiële combinatie chemotherapie/radiotherapie voorzichtig kunnen stellen, dat met de thans ter beschikking staande cytostatica alleen in geselecteerde gevallen, zowel wat localisatie als uitbreiding betreft, een kleine winst is te behalen ten opzichte van bestraling alleen. De overigens zeer beperkte en niet 'controlled' ervaringen met de sequentiële combinatie chemotherapie/chirurgie lijken de zojuist gegeven conclusie ook voor deze combinatie te wettigen. Richard en Snow (1976) vonden duidelijk verschil in driejaarsoverleving ten gunste van de combinatie intra-arteriële chemotherapie/chirurgie bij mondbodemcarcinomen en carcinomen van de infrastructuur van de maxilla, bij vergelijking met de resultaten van chirurgie alléén bij zogenaamde historische controles. Van belang is dat de schadelijke werking van chemotherapie op slijmvlies en huid volkomen reversibel is. Dit maakt chemotherapie een aantrekkelijker partner dan radiotherapie wanneer een combinatiebehandeling met chirurgie wordt overwogen. Van belang is te vermelden dat nog dit jaar binnen de EORTC een 'clinical trial' van start zal gaan waarbij voor uitgebreide mondbodemcarcinomen vergeleken zullen worden de resultaten van chirurgie alléén met die van chirurgie vooraf gegaan door intra-arteriële chemotherapie.

Het lijkt zeer de moeite waard om patiënten die goed reageren op

chemotherapie - toegediend met de bedoeling van initiële tumorverkleining - en die daarna geopereerd en/of bestraald worden, maar die desondanks op grond van de ervaringen een slechte kans op blijvende genezing lijken te hebben, langdurig chemotherapeutisch te blijven behandelen op de wijze zoals eerder werd uiteengezet. Ook dergelijke studies zullen alleen zinvol zijn wanneer zij worden uitgevoerd in het kader van een zgn. 'controlled clinical trial'. Aangezien vrijwel geen enkel centrum over voldoende patiënten beschikt om tot een definitieve evaluatie te komen, is hiervoor samenwerking op nationaal en internationaal niveau gewenst.

I.6. Samenvatting.

Van chemotherapie alléén is op dit moment bij hoofd-halstumoren geen blijvend succes te verwachten. Het in een vroeg stadium van de behandeling toevoegen van chemotherapie aan de gebruikelijke behandelingsmethoden chirurgie en bestraling lijkt echter in geselecteerde gevallen van voordeel te kunnen zijn. De vraag of hiermede slechts een levensverlenging van beperkte duur kan worden bereikt dan wel een hoger percentage blijvende genezingen, kan op dit moment niet beantwoord worden; hiertoe zullen o.a. de resultaten van de onder I.5. genoemde 'controlled clinical trial' moeten worden afgewacht.

Wat betreft het direkte effect van de cytostatica op de omvang van het tumorproces kunnen bovenstaande aan de literatuur ontleende en gedeeltelijk op ervaringen uit de eigen kliniek gebaseerde gegevens als volgt worden samengevat:

Continu I.V. methotrexaat:	Bij minder dan 30% van de patiënten wordt > 50% tumorregressie bereikt. (zie I.2.)
----------------------------	--

Intermitterende I.V. methotrexaat:	Bij 50% van de patiënten wordt > 50% tumorregressie bereikt. (zie I.2.)
------------------------------------	---

Continu I.A. methotrexaat:	Bij 53% van de patiënten wordt een effect op de tumor waargenomen. Geen nauwkeurige gegevens over het aantal patiënten met > 50% tumorregressie. (zie I.2.)
----------------------------	---

I.V. combinatie chemotherapie:	Bij 46% van de patiënten wordt > 50% tumorregressie bereikt. Een complete regressie wordt bij 3% waargenomen (zie I.4.a)
--------------------------------	--

I.A. combinatie chemotherapie:	Bij 60% van de patiënten wordt > 50% tumorregressie bereikt. Een complete regressie wordt bij 14% waargenomen (zie I.4.b)
--------------------------------	---

Deze gegevens lijken er op te wijzen dat:

- 1) I.A. toediening meer tumorregressie veroorzaakt dan I.V. behandeling mits vergeleken bij eenzelfde doseringsschema.
- 2) Combinatie van cytostatica superieur is aan enkelvoudige chemotherapie, waarbij I.A. toediening van de combinatie superieur lijkt aan I.V. toediening daarvan.

Deze voorlopige conclusies zijn in de kliniek alleen statistisch 'hard te maken' met behulp van 'controlled clinical trials'. De

uitvoering van dergelijke studies zal vanwege de relatieve zeldzaamheid, de veelheid van localisaties en de variatie in uitbreiding van de betreffende tumoren wel altijd zeer moeilijk zo niet onmogelijk blijven.

1.7. Vraagstellingen

Aangezien op korte termijn onvoldoende resultaten zijn te verwachten van 'controlled studies' over de optimale weg van toediening en het behandelingsschema van cytostatica, is getracht om door middel van een dierexperimenteel onderzoek een aantal vragen te beantwoorden. Met het onderzoek is allereerst getracht uitsluitsel te verkrijgen over de veronderstelde superioriteit van de intra-arteriële weg van toediening vergeleken met de systemische behandeling. Het betreft zowel de in de kliniek meest gebruikte cytostatica methotrexaat, bleomycine en 5-fluorouracil alléén als enkele combinaties van deze cytostatica.

Ten tweede is getracht om na te gaan of bepaalde toedienings-schema's van combinaties van cytostatica de therapeutische index verbeteren waarna het beste combinatieschema vergeleken zal worden met het beste schema van enkelvoudige chemotherapie.

Het grote voordeel van een goed opgezet diermodel is dat in relatief korte tijd grote aantallen dieren onder nauwkeurig gespecificeerde en gestandaardiseerde condities kunnen worden behandeld, waarbij het aantal variabelen zeer beperkt is gehouden. In een dergelijk diermodel - dat in veel opzichten overeen moet komen met de humane situatie - is het mogelijk om nauwkeurig omschreven vraagstellingen op statistisch betrouwbare wijze te toetsen.

De faktor 'gevoeligheid' van de gebruikte experimentele tumor dient bij dit onderzoek van ondergeschikte betekenis te zijn: bij extra-

polatie van dierexperimentele resultaten naar de kliniek mag deze tumorgevoeligheid geen rol spelen omdat experimentele dierlijke tumoren in veel opzichten afwijken van menselijke tumoren. Zo hebben dierexperimentele tumoren bijvoorbeeld een hogere groeisnelheid dan menselijke tumoren. Deze verschillen kunnen onjuiste indrukken over de werkzaamheid van chemotherapie in een diermodel veroorzaken. Tevens speelt metastasering in het diermodel in tegenstelling tot de humane situatie geen rol omdat de experimenten om voor de hand liggende redenen van korte duur zijn. Bij het doen van algemene uitspraken over de effectiviteit van een chemotherapieschema zou men bij een ideaal diermodel over een groot aantal experimentele tumoren moeten beschikken. Dit is echter in de praktijk niet mogelijk gebleken. Bij dit onderzoek is steeds van één soort tumor gebruik gemaakt. Bij het formuleren van de vraagstellingen en de interpretatie van de resultaten dient men zich hiervan rekenschap te geven.

Vraagstelling 1:

Is het mogelijk een diermodel te ontwikkelen waarbij een tumor in het hoofd-halsgebied langs intra-arteriële weg in analogie met de klinische behandeling via retrograde canulatie van een zijtak van de arteria carotis externa met cytostatica doorstroomd wordt?

Vraagstelling 2:

Is intra-arteriële infusie van in de kliniek veelvuldig toegepaste cytostatica in dit model superieur aan de systemische toediening daarvan ?

Vraagstelling 3:

Is in dit model de intra-arteriële toediening van een combinatie van cytostatica superieur aan de systemische combinatie van dezelfde stoffen?

Is het mogelijk om in het diemodel een combinatiebehandeling met enkele cytostatica te ontwikkelen waarvan de therapeutische index beter is dan van het beste schema van enkelvoudige chemotherapie?

ONTWIKKELING VAN HET DIERMODEL

II.1. Inleiding.

De ontwikkeling van een diemodel voor de bestudering van I.A.-infusie met cytostatica in het hoofd-halsgebied heeft ons vanaf 1971 bezig gehouden. Oorspronkelijk is een diemodel ontwikkeld waarbij een in de oorschelp van de rat geïmplanteerd rhabdomyosarcoom via occlusieve catheterisatie van de arteria carotis communis regionaal wordt doorstroomd. Een in de andere oorschelp aangebrachte tumor fungeert daarbij als systemische controle (Sindram, 1973). Er bestaat echter kritiek op de wijze van canulatie omdat de circulatie in het stroomgebied van de tumor mogelijk verandert door afbinding van de arteria carotis communis. Ontwikkeling van een diemodel dat meer overeenkomt met de humane situatie leek daarom gewenst. Het in dit proefschrift beschreven diemodel is gebaseerd op de oorspronkelijke proefopstelling en de ontwikkeling dient als een voortzetting van het werk van Sindram te worden beschouwd.

II.2. Voorwaarden waaraan het diemodel moet voldoen.

II.2.a Algemeen.

Het is essentieel dat een modelstudie reproduceerbare resultaten oplevert. Variaties in gebruikte technieken, eigenschappen van proefdieren en histologie en groeiwijze van een experimentele tumor dienen daarom zoveel mogelijk vermeden te worden. Het verdient aanbeveling om de proeven - en met name de metingen - door steeds dezelfde experimentator(en) te laten uitvoeren.

II.2.b Keuze van het proefdier.

Tot op heden zijn behalve bij ratten- en muizenstammen geen transplantabele tumoren bij ingeteelde proefdieren bekend. Grotere proefdieren waarbij minder hoge eisen aan de operatietechniek worden gesteld zijn doorgaans kostbaarder en de proeven nemen meer laboratoriumruimte in beslag. Bij de muis staan ons meer transplantabele tumoren ter beschikking dan bij de rat, maar de voorkeur gaat toch uit naar deze laatste diersoort omdat ratten minder beweeglijk zijn, en de arteriën eenvoudiger gecatheteriseerd kunnen worden. Het betrekkelijk rustige gedrag van de rat is vooral van belang in verband met de kwetsbaarheid van de infusie-opstelling. Om een homogene proefdierpopulatie te verkrijgen is het noodzakelijk om met inteeltstammen te werken. Dit voorkomt anatomische variaties, wisselende groei en onvergelykbare gegevens inzake de toxiciteit. Het optreden van intercurrente infecties welke mogelijk de tumorgroei en de toxiciteit beïnvloeden kan worden beperkt door met 'specific pathogen free' (SPF) dieren te werken. Dit houdt in dat de fok van endemische ziekteverwekkers zoals bijv. pleuro-pneumonia-achtige organismen (PPLD) wordt vrijgehouden.

II.2.c Keuze van de tumor.

Van belang is dat de geïmplanteerde tumor zodanig groeit dat een uitwendige meting in drie dimensies mogelijk is. De tumor dient derhalve niet infiltratief of plaatvormig te groeien.

Ook door andere onderzoekers is getracht door middel van tumormetingen een indruk te krijgen over tumorgroei en tumorregressie. Zo gebruikte Reinhold (1967) bij de meting van een geïmplanteerd rhabdomyosarcoom een plastic meetkaliber voorzien van ronde in diameter oplopende gaten waarmee hij een vrij nauwkeurige relatie tussen diameter en gewicht van de tumor vaststelde. Ook bleek het

aantal tumorcellen te relateren aan de vastgestelde diameter.

Hermens en Barendsen (1967) voerden metingen in drie richtingen uit bij tumoren welke in de flank van vrouwelijke ratten waren geïmplanteerd. Bij de berekening van de tumorvolumina maakten zij een onderscheid tussen een bolvormige en een ellipsoïde groeiwijze. Roding (1977) maakte bij de tumormetingen slechts gebruik van het produkt van twee diameters er van uit gaande dat meten van de derde dimensie van de tumor moeilijk wordt door optredende ulceratie, bloeding met korstvorming of mechanische beschadiging van het tumoroppervlak.

Hoewel het meten van een tumor in twee richtingen in bepaalde gevallen van nut kan zijn, met name daar waar de tumor niet goed in drie dimensies is af te grenzen of plaatvormig groeit, lijkt de drie dimensionele meetmethode het meest betrouwbaar. Het is daarbij wel noodzakelijk om alleen metingen uit te voeren van onbeschadigde tumoren waarbij geen ulceratie of oppervlakkige beschadiging heeft plaatsgevonden. Deze beperking houdt in dat in het algemeen grote aantallen dieren moeten worden behandeld om voldoende betrouwbare metingen te kunnen verrichten.

In deze studie is gebruik gemaakt van de meetmethode in drie richtingen. Hierbij wordt uitgegaan van de bevinding dat de tumor meestal een ellipsoïde vorm heeft. De inhoud van een ellipsoïde is $\frac{4}{3} \pi \times (0,5a \times 0,5b \times 0,5c)$ en is gelijk aan $\frac{1}{6} \pi \times a \times b \times c$ (π is 3,14), hetgeen ongeveer $0,5 \times a \times b \times c$ is. Door bij de eerste meting de grootste straal van de tumor te nemen en daarna een tweede meting loodrecht daarop uit te voeren waarna een derde meting loodrecht op het vlak van de eerste twee metingen wordt verricht, worden a, b en c verkregen. Het produkt $a \times b \times c$ is dan twee maal de ware tumorinhoud in kubieke millimeters. Dit produkt zal in het proefschrift verder als 'het tumorvolume' worden aangeduid.

Het is gebleken dat de meetfout sterk toeneemt bij kleine tumoren. Derhalve zijn alle tumoren met een volume van minder dan 100 van verdere bewerking uitgesloten.

Het tumorvolume moet op reproduceerbare wijze met cytostatische behandeling beïnvloedbaar zijn en als zodanig een betrouwbare maat vormen voor het bereikte therapeutische effect. Grote spreiding van de tumorgroei bij de controledieren en een sterk wisselende tumorregressie bij de behandelde dieren duidt vaak op een infectie van de rattenkolonie.

Bij een hoge groeisnelheid treedt snelle ulceratie op zodat geen betrouwbare metingen kunnen worden verricht. Bij ulceratie van het tumoroppervlak verliest de tumor aan volume zodat de meting onbetrouwbaar is. Een lage groeisnelheid komt weliswaar beter overeen met de meeste menselijke tumoren maar maakt anderszins een langere behandelingsduur noodzakelijk om meetbare tumorvolumeveranderingen te registreren. Dit schept enerzijds grote technische problemen bij de infusiebehandeling en anderzijds is het geringe aantal proefdieren dat per tijdseenheid behandeld kan worden een nadeel. Tenslotte is het noodzakelijk dat de tumor een meetbare gevoeligheid vertoont voor een aantal in de kliniek toegepaste cytostatica, zoals voor de behandeling van tumoren in het hoofd-halsgebied worden gebruikt. Zeer grote gevoeligheid van de experimentele tumor voor deze cytostatica kan echter leiden tot een te sterke tumorregressie of zelfs macroscopisch verdwijnen van het proces. Het is dan niet mogelijk om conclusies aan de onderling te vergelijken behandelingschema's te verbinden.

II.2.d Keuze van cytostatica.

Bij de beoordeling of in het diermodel een cytostaticum geschikt is voor intra-arteriële toediening, spelen de volgende overwegingen een rol:

1) oplosbaarheid in water.

Bij de toediening door middel van een infusiepomp is het noodzakelijk dat het cytostaticum bij kamertemperatuur in oplossing is.

2) houdbaarheid.

Het opgeloste cytostaticum wordt in een injectiespuit met behulp van een infusiepomp toegediend. Afhankelijk van het toedienings-schema dient deze oplossing van enkele dagen tot een week bij kamertemperatuur houdbaar te zijn.

3) biotransformatie.

Bioactivering van het toegediende cytostaticum buiten de tumor, bijvoorbeeld in de lever, dient kwantitatief geen belangrijke rol te spelen. Zo zal bijvoorbeeld de intra-arteriële toediening van cyclofosfamide geen zinvolle therapie zijn omdat het eerst in de lever geactiveerd moet worden teneinde op de tumor werkzaam te zijn.

4) snelheid van inactivatie en uitscheiding.

Een korte verblijfsduur van het werkzame cytostaticum in het lichaam door inactivatie of uitscheiding - bijvoorbeeld met de urine - is gunstig voor intra-arteriële toediening omdat daarbij de regionaal behandelde tumor waarschijnlijk een relatief hoge concentratie van het cytostaticum bevat vergeleken met de rest van het lichaam hetgeen de therapeutische index vergroot.

Voor het experiment wordt uitsluitend gebruik gemaakt van cytostatica die daadwerkelijk in de kliniek bij de behandeling van tumoren in het hoofd-halsgebied worden gebruikt. Bij de keuze van cytostatica is gebruik gemaakt van het overzicht van Carter en Soper (1974): slechts twee cytostatica hebben een bewezen werkzaamheid

bij de behandeling van tumoren in het hoofd-halsgebied. Dit zijn bleomycine en methotrexaat. Van 5-fluorouracil en Adriamycine (= doxorubicine) wordt werkzaamheid aangenomen hoewel de mate daarvan niet met voldoende zekerheid is vastgesteld. Van een aantal andere cytostatica wordt eveneens werkzaamheid verondersteld echter zonder dat dit tot op heden bewezen is geacht. Op grond van deze gegevens is in eerste instantie besloten bleomycine, methotrexaat en 5-fluorouracil in het onderzoek te betrekken. Adriamycine werd niet gekozen omdat ten tijde van de aanvang van het onderzoek de klinische toepassing - althans wat betreft de behandeling van hoofd-halstumoren in Nederland - zeer beperkt was. Het onderzoek van een vierde cytostaticum zou verder een ongewenste schaalvergroting van het experiment met zich mee brengen.

Bleomycine is goed oplosbaar in water, twee jaar bij kamertemperatuur in oplossing houdbaar en wordt niet in het lichaam geactiveerd. In de weefsels vindt snelle inactivatie plaats behalve in huid en longen. Dierexperimenteel onderzoek (Teale e.a., 1977) en recente klinische gegevens (Broughton e.a., 1977) wijzen op een korte halfwaardetijd van bleomycine in plasma. Afhankelijk van de toediening (I.V.-injectie of I.V. continu infuus) varieert deze van 15 minuten tot 1½ uur, waarna - bij lage plasmaconcentratie - een halfwaardetijd van ongeveer 9 uur wordt waargenomen.

Methotrexaat lost goed op in water en is bij kamertemperatuur als zodanig twee weken houdbaar. Waarschijnlijk speelt biotransformatie geen belangrijke rol. Methotrexaat wordt snel met de urine uitgescheiden. In geringere mate verlaat het ook via de galwegen met de faeces het lichaam (Johns e.a., 1964; Henderson e.a., 1965). 5-Fluorouracil is een kleurloze vloeistof en goed met water te vermengen. De houdbaarheid bij kamertemperatuur is goed. 5-Fluoro-

uracil wordt in de tumorcel geactiveerd waarbij het werkzame 5-fluoro-2-deoxyuridine-5-fosfaat ontstaat. Inactivatie vindt vooral in de lever plaats waarbij o.a. ureum vrij komt. De plasmahalfwaardetijd is kort; bij intraveneuze injectie bedraagt deze bijvoorbeeld 10 tot 20 minuten (Mukherjee e.a., 1963).

Bleomycine, methotrexaat en 5-fluorouracil beantwoorden aan de voorwaarden voor intra-arteriële toepassing in het diermodel. Bij de eigen experimenten is van deze drie cytostatica gebruik gemaakt.

II.2.e Catheterisatietechniek.

Bij I.A.-infusie van menselijke tumoren gelocaliseerd in het hoofd-halsgebied wordt van de arteria temporalis superficialis of de arteria thyroidea superior gebruik gemaakt. In beide gevallen wordt de catheter retrograad, na distaal afbinden van het vat, tot in de arteria carotis externa opgevoerd. Deze methode maakt het onwaarschijnlijk dat circulatieveranderingen in het tumorgebied optreden. Deze opzet is echter in een dierexperimenteel model nog niet eerder verwezenlijkt. De zeer geringe doorsnede van de arteriën van de rat heeft de ontwikkeling van een dergelijke techniek in de weg gestaan. Het vermijden van belangrijke circulatieveranderingen in de chemotherapeutisch te behandelen tumoren is echter gewenst. Tenslotte dienen de ratten over een goede bewegingsvrijheid te beschikken zonder de bedrijfszekerheid van het ingebrachte cathetersysteem in gevaar te brengen.

II.3. Occlusieve catheterisatie van de arteria carotis communis.

II.3.a Beschrijving van het occlusieve intra-arteriële catheterisatiemodel.

Bij de ontwikkeling van een nieuw I.A. infusiemodel is uitgegaan

van de proefopstelling zoals deze door Sindram in 1973 in zijn proefschrift is beschreven. Op de oorspronkelijke uitvoering wordt nu eerst nog nader ingegaan.

Bij deze opstelling wordt gebruik gemaakt van occlusieve catheterisatie van de linker arteria carotis communis waarbij een polyethyleencatheter nr. 10 onder Hypnorm-narcose na proximale afbinding in de arteria carotis communis wordt geschoven. De cathetertip ligt daarbij juist onder de carotisbifurcatie. Het is door Sindram in het experiment aangetoond dat afbinding van de arteria carotis communis omkering van de stroomrichting in de arteria carotis interna tot gevolg heeft, zodanig dat de circulatie in de arteria carotis externa door bloedtoevoer uit de circulus Willisi via de arteria carotis interna wordt hersteld. Cytostatica welke via de catheter in de arteria carotis communis worden geïnfundeerd bereiken zodoende de arteria carotis externa en haar vertakkingen. De geïmplanteerde tumor welke zich in dit stroomgebied bevindt wordt dus langs regionale weg geïnfundeerd. Een aan de andere zijde van de kop geïmplanteerde tumor kan als systemische controle beschouwd worden.

Op deze wijze is het mogelijk gebleken het proefdier gedurende 7 dagen te infunderen. De ratten zijn daarbij in een speciaal ontworpen verblijf van staaldraad gehuisvest. Een roestvrij stalen knaagvrije canule is in de nek bevestigd en ongeveer 20 cm boven het proefdier door middel van een lekvrije draaikoppeling met het aanvoerende infusiesysteem verbonden. De draaikoppeling ('swivel') is in een verende ophanging geplaatst zodat het dier zowel in verticale richting als om zijn as grote bewegingsvrijheid geniet. Het aanvoerende infusiesysteem bestaat uit een fijn regelbare Braun infusiepomp waarop zes injectiespuiten van 20 ml zijn geplaatst. Deze voeden ieder een dunne polyethyleencatheter die op een draai-

koppeling is aangesloten. De verbinding van draaikoppeling naar roestvrijstalen knaagvrije canule wordt door een siliconslangetje verzorgd. Voor de bevestiging van de stalen canule aan de hals van het proefdier wordt gebruik gemaakt van een tweede siliconslangetje dat over de canule is geschoven. Het vrije uiteinde ervan is in de lengterichting opengesneden zodat de beide aldus ontstane 'slippen' subcutaan in de nek kunnen worden ingehecht. De fijne polyethyleencatheter welke voor de canulatie van het vat is gebruikt wordt subcutaan naar de dorsale zijde van de hals doorgevoerd en eindigt in het in de lengterichting gespleten siliconslangetje. De afdichting aldaar wordt met een fijne metalen draadligatuur tot stand gebracht. Deze opstelling waarborgt een reproduceerbare techniek waarbij ratten gedurende zeven dagen langs I.A. weg geïnfundeerd kunnen worden.

Als plaats voor de tumor-implantatie wordt aan beide zijden de oorschelp gekozen waarbij de tumor in het linker oor het cytostaticum regionaal en in het rechter oor systemisch ontvangt. Hierdoor is het mogelijk om in één dier het regionale effect met het systemische effect van een cytostaticum bij dezelfde algemene toxiciteit te vergelijken.

De occlusieve canulatietechniek is echter niet geheel in overeenstemming met de methode welke bij de mens wordt toegepast. Hoewel de circulatie in de linker arteria carotis externa via de circulus Willisi vanuit de andere zijde wordt hersteld - de arteria carotis externa is dan een zijtak geworden van de arteria carotis interna - is het aannemelijk dat afbinding van de arteria carotis communis veranderingen in de circulatie van de aan de linker zijde geïmplanteerde tumor veroorzaakt. Bij de mens is bijvoorbeeld bekend dat onderbinding van één arteria carotis communis in de meeste gevallen ernstige cerebrale circulatiestoornissen tot gevolg heeft,

hetgeen impliceert dat ook de circulatie in de arteria carotis externa duidelijk is afgenomen.

Bij de ontwikkeling van een nieuw diermodel is de problematiek rondom de circulatie in het stroomgebied van de arteria carotis externa na afbinden van de arteria carotis communis aan dezelfde zijde centraal gesteld.

II.3.b Evaluatie van het occlusieve intra-arteriële catheterisatiemodel.

II.3.b.1. De circulatie in het stroomgebied van de arteria carotis externa na onderbinding van de arteria carotis communis.

Hoewel herstel optreedt van de circulatie in de arteria carotis externa doordat de bloedvoorziening via de circulus Willisi vanuit de andere zijde wordt overgenomen, is het zeer de vraag of de circulatie in het tumorgebied hierdoor niet in kwantitatieve zin verandert. Op drie manieren is getracht een indruk te krijgen van de bloedvoorziening in het tumorgebied na afbinding van de arteria carotis communis: 1. intra-arteriële bloeddrukmeting,

2. meting van de tumorgroei aan de afgebonden zijde vóór en na afbinden van de arteria carotis communis,
3. distributie van radio-actief gelabelde partikeltjes in het hoofd-halsgebied vóór en na afbinden van de arteria carotis communis.

ad.1.: twee series van 4 ratten ondergingen onder algehele Hypnorm anaesthesie canulatie van de arteria carotis communis. Bij één groep was de canule in caudale richting ingebracht, zodanig dat de cathetertip juist boven de arcus aortae uitmondde. In de tweede

groep was de canule in craniale richting ingebracht waarbij de cathetertip onder de carotisbifurcatie gelegen was. Bij alle dieren werd de circulatie in de arteria carotis communis daarbij door onderbinding opgeheven. De ingebrachte catheter was met een open infusiesysteem gevuld met NaCl 0,9%/heparinemengsel verbonden. De infuusfles was door middel van een katrol boven de rat opgehangen en kon van hoogte gevarieerd worden. De afstand van de vloeistofspiegel in de infuusfles tot het vlak waarop zich het proefdier bevond was nauwkeurig meetbaar en werd in centimeters uitgedrukt. Bij het vergelijken van beide groepen dieren bedroeg de druk in de catheter welke juist onder de carotisbifurcatie was gelegd gemiddeld 60% van de druk welke in de andere groep boven de arcus aortae werd gemeten. Er trad met andere woorden een bloeddrukdaling op na afbinding van de arteria carotis communis welke niet geheel door omkering van de stroomrichting in de arteria carotis interna werd hersteld.

Een tweede methode combineerde beide meettechnieken in dezelfde dieren. Hiertoe werd bij vier dieren een catheter boven de arcus aortae ingebracht en een tweede juist onder de carotisbifurcatie. De circulatie in de arteria carotis communis werd door onderbinding opgeheven. Beide catheters werden met een open infuussysteem gevoed. Het was dus steeds mogelijk de intra-arteriële druk proximaal en distaal van de onderbinding te meten. Het bleek ook nu dat de bloeddruk onder de carotisbifurcatie lager was dan boven de arcus aortae. De daling bedroeg gemiddeld ongeveer 40%. Met andere woorden de druk onder de carotisbifurcatie was 60% van de druk boven de aortaboog. Bij alle proeven werd getracht de Hypnorm-narcose 3 uur te laten voortduren en in geen der gevallen trad een herstel van de bloeddruk binnen dit tijdsbestek op.

ad.2.: De invloed van afbinding van de arteria carotis communis op de circulatie van de arteria carotis externa aan dezelfde zijde kan ook indirect worden nagegaan. Vier proefdieren, voorzien van in beide oorschelpen geïmplanteerde tumoren (rhabdomyosarcoom) ondergingen aan één zijde afbinding van de arteria carotis communis. De tumorvolumina werden aan beide zijden nauwkeurig in drie richtingen gemeten. Zonder verdere therapie werden de dieren gedurende 3 weken vervolgd. Het blijkt dat bij alle ratten de tumorgroei aan de zijde waar de arteria carotis communis werd afgebonden duidelijk achterbleef t.o.v. de andere kant. In deze oriënterende serie was het tumorvolume aan de afgebonden zijde gemiddeld 50% minder in omvang toegenomen dan van de andere tumor. Ook Sindram signaleerde een verminderde groeisnelheid aan de gecanuleerde en afgebonden zijde hoewel deze slechts gemiddeld 20% minder was ten opzichte van de niet afgebonden kant. De oorzaak van deze verminderde tumorgroei werd door Sindram mogelijk geweten aan het gebruik van heparine en/of het operatietrauma.

ad.3.: In samenwerking met dr. G. van den Bos van de afdeling Fysiologie van de Vrije Universiteit te Amsterdam is daarop een proef uitgevoerd waarmee de 'flow' naar de tumor vóór en na afbinding van de arteria carotis communis kon worden gemeten. Daarbij werd gebruik gemaakt van met scandium (Sc) en strontium (Sr) radioactief gemerkte 'microspheres' die vóór en na onderbinding van de arteria carotis communis in zes genarcotiseerde ratten werden ingespoten.

Uitvoering van de proef:

Mannelijke BN/Wag Rij ratten van 250 tot 300 gram lichaamsgewicht werden met 0,1 ml/100 g lichaamsgewicht Hypnorm in slaap gebracht.

De proefdieren werden daarna met positieve druk via een tracheotomiecanule met behulp van een M.K 2 Infant Respirator (Loos & Co. Amsterdam) beademd. De thorax werd daarop in de mediaanlijn geopend. Radioactief gemerkte 'microspheres' (^{85}Sr en ^{46}Sc ; $15 \mu \pm 5$; 3M-Company) werden gesuspenderd in plm. 0,1 ml fysiologische zoutoplossing. Met de eerste injectie werd Sr via een naald in de apex van de linker ventrikel van het hart ingespoten (10^6 'counts'/min; ± 250.000 'microspheres'). De inspuiting werd gevolgd door afbinding van de vrijliggende linker arteria carotis communis. Vijf minuten na afbinding volgde een tweede inspuiting, nu met Sc (10^6 'counts'/min; ± 250.000 'microspheres'). Hierna werd het proefdier gedood waarna de oren met de daarin geïmplanteerde tumoren werden afgeknipt. De radioactiviteit werd gemeten met een LKB Wallac Ultrogamma. In tabel 1 zijn de resultaten weergegeven in counts/min. nadat de 'background' activiteit is afgetrokken en correctie voor 'spill-over' is toegepast.

De verhouding van de verdeling van de 'microspheres' vóór afbinding van de arteria carotis communis vertoont een grote spreiding welke mogelijk voor een deel op de anatomische verhoudingen en/of het optreden van laminaire stroming is terug te voeren.

De verhouding van de activiteit in het linker en het rechter oor is significant kleiner na occlusie van de arteria carotis communis sinistra (Wilcoxon Signed Rank Test, $\alpha = 0,05$). Dit resultaat wijst erop dat onder de omstandigheden van het experiment de bloedstroom naar het oor bij afsluiting van de homolaterale arteria carotis communis niet volledig wordt overgenomen door aanvoer vanuit de circulus Willisi.

Het resultaat van dit experiment steunt de hypothese dat circulatieveranderingen in de tumor aan de afgebonden zijde optreden, hoe-

wel ook deze gegevens geen absoluut bewijs vormen: een langer
 durende occlusieperiode van de arteria carotis communis kan moge-
 lijk - hoewel dat niet aannemelijk is - de collaterale 'flow'
 doen toenemen. Verder blijkt de hoeveelheid 'microspheres' per
 oor in het experiment niet in alle gevallen 400 of meer; dit is
 de hoeveelheid die door Buckberg e.a. (1971) is aangegeven ter
 berekening van de bloedstroom met een betrouwbaarheid van 10%.
 Aangezien de bloedstroom naar de oren zeer gering blijkt te
 zijn moeten grote hoeveelheden 'microspheres' worden toegediend.
 Hoewel het niet bekend is hoeveel 'microspheres' bij de rat kunnen
 worden ingespoten zonder de werking van het hart te beïnvloeden,
 leek overschrijding van 300.000 'microspheres' - hetgeen al vijf
 maal zo veel is als door Malik e.a. (1976) wordt gebruikt - niet
 gewenst. De 'flow' is uitgedrukt in 'counts'/min/g, omdat alleen
 de veranderingen in de circulatie van belang zijn. Het is niet
 onderzocht of circulatieveranderingen tengevolge van injecties
 optraden. Het is overigens de vraag of dergelijke veranderingen
 het resultaat beïnvloeden.

Gezien deze ons ter beschikking staande gegevens is daarna afge-
 zien van de occlusieve canulatietechniek van de arteria carotis
 communis, omdat deze zeer waarschijnlijk veranderingen in het
 stroomgebied van de arteria carotis externa met zich meebrengt.
 De proefopstelling is daarop ingrijpend gewijzigd.

II.3.b.2. Doorgankelijkheid van het infusiesysteem.

Reeds bij de eerste proeven waarbij de occlusieve canulatietechniek
 werd toegepast bleek in een hoog percentage verstopping van de
 catheter op te treden. Hoewel in een aantal gevallen lekkage van
 het aanvoerende infusiesysteem werd vastgesteld, waarmee dit ver-

TABEL I

De activiteit in beide oren na inspuiting van Strontium (Sr) v66r
 afbinding en Scandium (Sc) na afbinding van de arteria carotis communis.

Dier no.	Oor li of re	Activiteit na ⁸⁵ Sr*1 ⁴⁶ Sc*1		Verhouding li/re v66r afbinding*2	Verhouding li/re na afbinding*2
1	li	50,9	307,4	2.16	0.83
	re	23,5	372,8		
2	li	113,4	- *3	1.42	0.55
	re	60,9	-		
3	li	4011,2	2061,9	0,66	0,21
	re	2842,1	3749,3		
4	li	839,4	62,7	1.42	1.27
	re	1266,0	304,3		
5	li	2212,7	4438,8	1.92	1.02
	re	1558,1	3494,2		
6	li	3418,2	559,4	0.74	0.25
	re	1776,4	546,1		
7	li	1585,8	900,4		
	re	2155,2	3552,3		

*1 'counts'/min/g

*2 verhouding 'counts' linker en rechter oor respectievelijk v66r en
 na afbinding van de arteria carotis communis sinistra.

*3 bij rat no.2 was geen Sc-activiteit meetbaar. Waarschijnlijk is de
 injectie onjuist toegediend.

schijnsel was verklaard, kon meestal echter geen duidelijke oor-
 zaak worden gevonden. Om stolling te voorkomen werd daarop bij
 een groot aantal ratten de heparineconcentratie verhoogd. In over-
 eenstemming met de proeven van Sindram was de infusiesnelheid op
 2,64 ml/24 uur vastgesteld. Zelfs bij een concentratie van 50 E/ml

infusaat trad nog bij enkele dieren obstructie van de catheter op. Bij verdere verhoging tot 100 E/ml werd éénmaal een lethaal verlopende bloeding in de tractus digestivus gezien. Deze relatief heparine-ongevoelige trombose heeft tot het testen van hogere infusiesnelheden geleid. Hierop wordt in dit hoofdstuk onder 4.c nader ingegaan.

II.3.b.3. Fixatie infusiesysteem.

Bij de gebezigde bevestigingstechniek van het infusiesysteem is aanvankelijk uitgegaan van de door Sindram toegepaste constructie (zie II.2.a). Een bezwaar hiervan is de toepassing van de in de lengterichting opengesneden siliconslang waarmee de knaagresistente stalen canule in de subcutis is vastgehecht. Deze scheurt gemakkelijk af en wordt vaak uit de nek huid losgetrokken. De afdichting van de fijne PP10-catheter welke in dit siliconslangetje eindigt laat eveneens vaak te wensen over. Het cathetersysteem raakt op dit punt vaak los hetgeen voor een hoog percentage mislukte infusies verantwoordelijk is geweest. Tenslotte voldeed het inhechten van de silicon'slippen' in de subcutis niet, omdat in een aantal dieren ontstekingsreacties optraden, welke mogelijk met het inhechten van dit corpus alienum verband hielden. Verandering van de bevestigingsmethode was derhalve noodzakelijk en de ontwikkeling ervan wordt in hoofdstuk II.4.c besproken.

II.4. Ontwikkeling van een nieuw intra-arterieel infusiemodel bij de rat.

II.4.a Inleiding.

De retrograde canulatie van een zijtak van de arteria carotis externa - zoals bij de mens wordt toegepast (zie II.1.d) - heeft

model gestaan voor de ontwikkeling van een nieuwe I.A.-infusietechniek bij de rat. De proefdieren hebben in beide oren een geïmplanteerde experimentele transplantabele tumor. Zonder veranderingen in de circulatie van de tumor aan te brengen wordt de linker tumor regionaal geïnfundeerd en de rechter is daarbij de systemische controle. Op de ontwikkeling van dit model wordt nu nader ingegaan.

II.4.b Catheterisatietechniek.

De diameter van de zijtakken van de arteria carotis externa bij de rat is zodanig klein dat zelfs de dunste in de handel verkrijgbare polyethyleencatheter, type PE10 of PP10, met een uitwendige diameter van 0,61 mm niet zonder meer kan worden gebruikt. In zijn proefschrift ('Intra-arteriële infusie van de rattelever in vivo', 1974) beschrijft Cotino een door hem ontwikkelde methode waarmee cathetermateriaal PE10 door middel van verwarming met een gasvlam tot een dikte van 200 micron kan worden uitgetrokken. Uit eigen ervaring is gebleken dat de catheter ook zonder verwarming met de hand tot ongeveer een dikte van 300 micron is uit te trekken. Met een catheter van een dergelijke diameter is het zeer goed mogelijk om met behulp van het operatiemicroscop (Zeiss-type OPMI 6) de zijtakken van de arteria carotis externa te canuleren. Allereerst werd enkele malen de arteria thyreoidea superior gecatheteriseerd. De fixatie van de catheter in dit korte en mobiele vat aan de ventrale zijde van de hals liet te wensen over. Vervolgens werd getracht de arteria maxillaris externa (bij de mens: arteria facialis) te canuleren (afb.25). Deze verloopt van suprahyoidaal tussen de voorste buik van de musculus digastricus en de musculus masseter over de mondbodemmusculatuur naar voren tot over de rand van de mandibula. Dit gebied is veel minder blootgesteld

aan abrupte bewegingen dan de structuren aan de ventrale zijde van de hals, en bij oriënterende proeven deden zich minder complicaties met de catheterfixatie voor.

Inspuiten van blauwe kleurstof, 'patent blue violet', in de arteria maxillaris externa bleek de oorschelpregio inclusief de geïmplanteerde tumor sterk blauw ten opzichte van de omgeving af te tekenen. Met andere woorden, dit gebied wordt vanuit een in de arteria maxillaris externa gebrachte catheter in hoge mate selectief doorstroomd. Onderbinding van de arteria maxillaris externa brengt geen nadelige gevolgen met zich mee voor de vascularisatie van het tumorgebied. Deze wordt nl. door de arteriae auricularis anterior en posterior verzorgd, beide zijtakken van de arteria carotis externa.

II.4.c Het infusiesysteem.

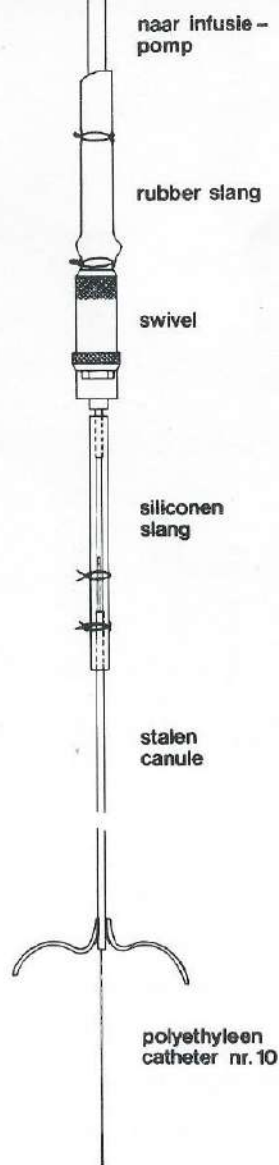
De fixatie van de rat aan het infusiesysteem werd analoog aan de opstelling van Cotino (1974) herzien. Door aan de knaagresistente roestvrijstalen canule een gebogen gaffelconstructie te solderen kan een uitwendige halsband worden aangebracht. Over beide einden van de gaffel is een polyethyleenslang PP100 geschoven welke om de hals van het dier loopt (afb.1). De fixatie van de 'halsband' vindt door middel van twee hechtingen plaats, één aan de dorsale zijde en één aan de ventrale zijde van de hals. Beide knopen worden tevens benut voor de sluiting van de dorsale en ventrale incisies (zie hoofdstuk III.4.). Voor de operatie wordt de met de hand uitgetrokken PP10-catheter door de stalen canule heengevoerd en laat daarbij aan de onderzijde ongeveer 10 cm vrij, hetgeen voldoende catheterlengte is om subcutaan naar de ventrale zijde van de hals doorgevoerd te worden (afb.2). De catheter is dan voldoende lang om heftige bewegingen van het proefdier op te vangen. Aan de boven-



afb.1.

Rat met gaffelconstructie en polyethyleen 'halsband'.

zijde van de stalen canule loopt de PP10-catheter 15 mm door in het siliconeslangetje tussen canule en 'swivel' (draaikoppeling). Om lekkage te voorkomen worden de volgende connecties met koperen borgdraad beveiligd: de verbindingen tussen siliconeslang en roestvrijstalen canule, rubber slang en bovenzijde 'swivel' en ter plaatse van de PP10-catheter in de siliconeslang. Dit cathetersysteem is bedrijfszeker, vooral omdat hierbij de kwetsbare onderste verbinding van de PP10-catheter en de roestvrijstalen canule is komen te vervallen en de halsbandfixatie sterker en minder laederend is. Een ander voordeel is dat de dode ruimte tussen de infusiepomp en rat verkleind is omdat de fijne PP10-catheter door de knaagbestendige canule heenloopt waardoor het ruime lumen van deze canule in het infusiesysteem is komen te vervallen.



afb. 2.

Cathetersysteem met knaagresistente canule en 'swivel' schematisch weergegeven. De polyethyleencatheter PP10 is door de stalen canule heengevoerd en eindigt in de silicon slang.

Aangezien de heparineconcentratie in het infusaat blijkbaar weinig invloed had op het verstopping van het infusiesysteem (zie II.3.b.2) werd gekozen voor een concentratie van 10 E/ml, opgelost in NaCl 0,9%. Teneinde te trachten om het aantal mislukte infusies door verstopping van de catheter terug te dringen werd de infusiesnelheid van 2,64 ml/24 uur verhoogd tot 3,57 ml/24 uur hetgeen overeenkomt met één stand hoger van de regelknop van de Braun infusie-pomp. Dit heeft vrijwel het probleem van de spontaan verstopte catheters opgelost. Indien alsnog stolling optrad was dit meestal terug te voeren op lekkage in het aanvoerende systeem waardoor de aanvoer van het infusaat stagneerde (zie III.6.) Bij alle, in dit proefschrift bewerkte, experimenten is steeds met een infusiesnelheid van 3,57 ml/24 uur gewerkt.

DEFINITIEVE UITVOERING VAN HET DIERMODEL

III.1. Het proefdier.

Alle proeven zijn uitgevoerd met ratten welke onder 'specific pathogen free' (s.p.f.) condities in het Radiobiologisch Instituut van T.N.O. Rijswijk zijn gefokt. Aanvankelijk zijn in de aanloopfase van het onderzoek vrouwelijke Wag Rij ratten gebruikt. Nadat het gehele diermodel eind 1973 naar het Laboratorium voor Experimentele Geneeskunde van de Vrije Universiteit te Amsterdam was overgebracht bleek echter dat de ratten het transport van Rijswijk naar Amsterdam, noodzakelijk voor de wekelijkse bevoorrading van proefdieren, slecht verdroegen. Bovendien voldeed de opzet van het dierversblijf van het Amsterdamse laboratorium niet aan s.p.f.-condities, hetgeen de morbiditeit onder de proefdieren in de hand werkte. Bij zieke dieren is de tumorgroei doorgaans niet voorspelbaar gebleken en ook treden er veelal belangrijke gewichtswisselingen op. Er is daarna verder gebruik gemaakt van een s.p.f.-gefokte F1 bastaardrat, de mannelijke BN/Wag Rij rat, waarmee alle in het proefschrift bewerkte infusiebehandelingen zijn uitgevoerd. Bij de keuze werd van de veronderstelling uitgegaan dat deze bastaardrat mogelijk een geringere kwetsbaarheid vertoonde hetgeen in het verdere experiment inderdaad bevestigd kon worden.

De keuze tussen vrouwelijke en mannelijke proefdieren werd gedicteerd door de leverantiemogelijkheden van beide sexen in die fase van het experiment.

Bij het begin van de infusiebehandeling hadden de dieren een gemiddeld gewicht van 250 gram met een spreiding van 230 tot 300

gram. De voeding bestond uit rattenkorrels, merk Hope Farms, type AMII 10mm en leidingwater. Zowel voor de laboratoriumruimte als voor het dierversblijf waar zich de donorratten en de behandelde ratten bevonden is geen gebruik gemaakt van een klimaatkamer. De temperatuur varieerde doorgaans van 21 tot 23°C.

III.2. De tumor.

Aanvankelijk is bij de voortzetting van de proeven van Sindram van het rhabdomyosarcoom gebruik gemaakt. Deze tumor is oorspronkelijk in 1962 in een Wag Rij rat ontstaan nadat deze 8 maanden ervoor een totale lichaamsbestraling had ondergaan. De R₁-lijn van deze tumor wordt sindsdien door Prof. Dr. G.W. Barendsen van het Radiobiologisch Instituut te Rijswijk in diepgevroren toestand opgeslagen en daarnaast tevens in weefselkweek aangehouden. Regelmatig worden tumorcellen uit de weefselkweek in de flanken van Wag Rij ratten geïnoculeerd. De later ontstane tumoren worden dan als donortumor voor het verdere experiment gebruikt. De voornaamste reden om deze tumor te gebruiken was de mogelijkheid de eigen behandelingsresultaten met die van Sindram te vergelijken. De uitvoerige gegevens die verder over deze tumor dankzij de onderzoeken van Reinhold (1967) en Hermens en Barendsen (1967, 1969) beschikbaar zijn werden als een belangrijk voordeel beschouwd. In de zomer van 1973 ontstonden echter problemen met de weefselkweek in het laboratorium van T.N.O. Rijswijk, waardoor deze lijn voorlopig als onbruikbaar beschouwd diende te worden. Aangezien de ingevroren oorspronkelijke tumor slechts in beperkte hoeveelheid ter beschikking stond en het direct uit de diepvries implanteren in een rat slechte resultaten opleverde is de toepassing van deze tumor in februari 1974 beëindigd. Het verkrijgen van een goede weefselkweek zou immers nog maanden gaan duren, waardoor het experiment grote vertraging zou oplopen. De moeilijkheden

met de tumorlijn kondigden zich al vanaf oktober 1973 in het eigen experiment aan in de vorm van vroegtijdige ulceratie van de tumoren en sterke spreiding in groeisnelheid daarvan bij de controledieren. Op grond hiervan zijn de resultaten van ruim 120 geïnfundeerde ratten welke in die periode met 5-FU, MTX en BLM zijn behandeld niet geschikt voor bewerking en derhalve ook in het proefschrift niet verder vermeld.

In april 1974 kon over een andere experimentele tumor worden beschikt waarmee eerst oriënterende proeven zijn gedaan alvorens het onderzoek op grotere schaal voort te zetten. Het betreft een plaveiselcelcarcinoom dat oorspronkelijk in 1967 in de huid van een bestraalde Wag Rij rat was ontstaan. De tumor is welwillend door Prof.Dr. G.W. Barendsen ter beschikking gesteld en in het laboratorium van Prof.Dr. L.M. van Putten in de flanken van donorratten (F1 BN/Wag Rij) aangehouden. Eigen metingen toonden een verdubbelingstijd van 4,5 tot 5,0 dagen aan. Bij histologisch onderzoek blijkt de tumor in solide velden en nesten te groeien en vertoont verhoogde mitotische activiteit. Verder worden verspreide dyskeratose en hoornparelformatie aangetroffen. Het histologisch beeld past bij een matig tot goed gedifferentieerd plaveiselcelcarcinoom hetgeen ook later in het experiment bij wijze van controle bij herhaling werd bevestigd.

Bij implantatie in F1 BN/Wag Rij ratten is nooit antigeniciteit aangetoond; de tumorgroei bleek altijd reproduceerbaar te zijn en na verwijdering van een grote tumormassa in een donorrat slaat een tweede tumortransplantaat in hetzelfde dier goed aan. De volumeverdubbelingstijd van de opnieuw gevormde tumor bedraagt wederom 4,5 tot 5,0 dagen. Het ontbreken van antigeniciteit is ook door Barendsen e.a. (1977) gesignaleerd. De tumor vertoont een exofytische groeiwijze welke de vorm van een ellipsoïde benadert.

Slechts bij het bereiken van een zeer groot tumorvolume, bijvoorbeeld 25 ml, ontstaan in het weefsel multipelle cysten. Bij de kleinere tumoren zoals voor de infusieproeven in de oren worden gebruikt, zijn deze cysten niet waargenomen.

III.3. De cytostatica.

Zoals in hoofdstuk II.2.d is uiteengezet, zijn voor toepassing in het experiment uitgekozen: methotrexaat, bleomycine en 5-fluorouracil. Zeer in het kort zal hier op de werkingsmechanismen van deze cytostatica worden ingegaan. Voor uitgebreide informatie verwijs ik naar de grote handboeken, zoals 'The Pharmacological Basis of Therapeutics' van Goodman en Gilman, 'Antineoplastic and Immunosuppressive Agents' van Sartorelli en Johns en 'Cancer Medicine' van Holland en Frei.

In dit hoofdstuk staat bij de bespreking van de cytostatica methotrexaat voorop, omdat het in de kliniek bij de behandeling van tumoren in het hoofd-halsgebied veruit het meest wordt toegepast. Bij de behandeling van de resultaten van het eigen experiment (hoofdstuk IV) is deze volgorde gewijzigd omdat de belangstelling - na het onderzoek van Sindram dat geheel aan methotrexaat was gewijd - vooral op de intra-arteriële toediening van bleomycine en 5-fluorouracil was gericht.

III.3.a Methotrexaat (MTX)

In 1947 werd MTX voor het eerst door Seeger, Smith en Hultquist gesynthetiseerd. MTX behoort tot de groep der antimetaboliëten en is een antagonist van foliumzuur. Foliumzuur is noodzakelijk voor de vorming van purine en thymidine, stikstofbasen van het DNA-molecuul. MTX grijpt dus aan op de DNA-synthese welke in de celcyclus in de zgn. S-fase plaatsvindt.

Het werkingsmechanisme kan als volgt vereenvoudigd worden weergegeven: MTX gaat een sterke reversibele binding aan met dihydrofoliumzuur reductase. Dit enzym speelt een rol bij de omzetting van dihydrofoliumzuur in tetrahydrofoliumzuur, welke stof verder wordt omgezet tot purine en tymidine. Doordat MTX de binding met dihydrofoliumzuur reductase aangaat, wordt geen tetrahydrofoliumzuur gevormd en dus geen DNA. De affiniteit van MTX voor dihydrofoliumzuur reductase is veel groter dan die van dihydrofoliumzuur voor dihydrofoliumzuur reductase, zodat MTX bij de competitie in het voordeel is.

In 1950 synthetiseerde Burchenal een effectief antidotum van MTX, leucovorin (N_5 -formyl-tetrahydrofoliumzuur) dat gezonde cellen tegen MTX kan beschermen. Leucovorin (LV) gaat met MTX een competitie aan bij de celmembraanpassage. In de cel kan met behulp van LV buiten dihydrofoliumzuur reductase om, tetrahydrofoliumzuur worden gesynthetiseerd zodat DNA weer wordt gevormd. Hierop is de zgn. leucovorin 'rescue' gebaseerd (Capizzi e.a., 1970) waarbij normale weefsels beschermd worden voor MTX zonder het antitumoreffect van MTX teniet te doen. De selectiviteit heeft mogelijk te maken met de celmembraanpermeabiliteit voor MTX welke van tumorcellen anders is dan van normale cellen.

Bij het experiment is afgezien van LV-'rescue' omdat deze bij het beantwoorden van de vraagstellingen geen essentiële rol speelt. Het is echter niet uitgesloten dat het gebruik van LV de toepassing van hogere doses van MTX met dienstegevolge betere resultaten zou hebben mogelijk gemaakt.

De overweging dat LV dan uitsluitend een kwantitatieve verandering maar geen essentiële verandering van het effect zou bewerkstelligen heeft meegespeeld bij de beslissing LV-'rescue' achterwege te laten.

III.3.b Bleomycine (BLM)

Bleomycine is in 1962 door Umezawa ontwikkeld. Het is een antitumor antibioticum dat uit een aantal wateroplosbare glycopeptiden is opgebouwd en dat verkregen wordt als fermentatieproduct van *Streptomyces Verticillus*, een actinomyceet welke uit de aarde van een kolenmijn te Kahu-gun, Japan, geïsoleerd is. Het klinisch toegepaste product bleomycine is een gecompliceerd mengsel van glycopeptiden, die door een eindstandige aminoketen van elkaar verschillen. Tot op heden zijn negen verschillende soorten natuurlijke bleomycinen geïsoleerd, maar door aminen aan bleomycinezuur te koppelen werden reeds over de honderd verschillende synthetische verbindingen verkregen. In het klinisch toegepaste preparaat zijn de A2 en B2 fracties kwantitatief de belangrijkste.

De werking van bleomycine berust waarschijnlijk vooral op het splitsen en fragmenteren van DNA-ketens. Uit dierexperimenteel onderzoek is gebleken dat DNA-ligase, noodzakelijk voor het copieëren en repareren van DNA, door bleomycine wordt geremd, zodat de gespleten DNA-ketens niet gerepareerd kunnen worden. Een andere belangwekkende eigenschap van bleomycine is een zekere selectieve werking op plaveiselcelcarcinoom, huid en longen. Er zijn aanwijzingen dat de meeste weefsels enzymen bevatten welke bleomycine snel inactiveren. Deze stoffen ontbreken echter in huid en longweefsel. Tevens is vastgesteld dat sarcomen veel sneller bleomycine inactiveren dan plaveiselcelcarcinomen. De achtergrond van deze enzymatische werking is echter nog niet duidelijk, al zijn er enkele hypothesen.

Studies met gesynchroniseerde celsystemen toonden aan dat bleomycine de celcyclus blokkeert met ophoping van cellen in de G2-fase. Een deel van deze cellen is daarbij ernstig beschadigd. Volgens

andere studies zijn cellen in de mitosefase juist zeer gevoelig voor bleomycine. Voor uitgebreide informatie over deze materie verwijs ik naar publikaties van Umezawa (1973a, b).

III.3.c 5-Fluorouracil (5-FU)

5-Fluorouracil is een antimetaboliët waarvan de werking berust op blokkering van de synthese van thymidylaatzuur waardoor de biosynthese van DNA ernstig gestoord wordt. In 1957 is 5-FU voor het eerst door Duschinsky, Plevén en Heidelberger gesynthetiseerd.

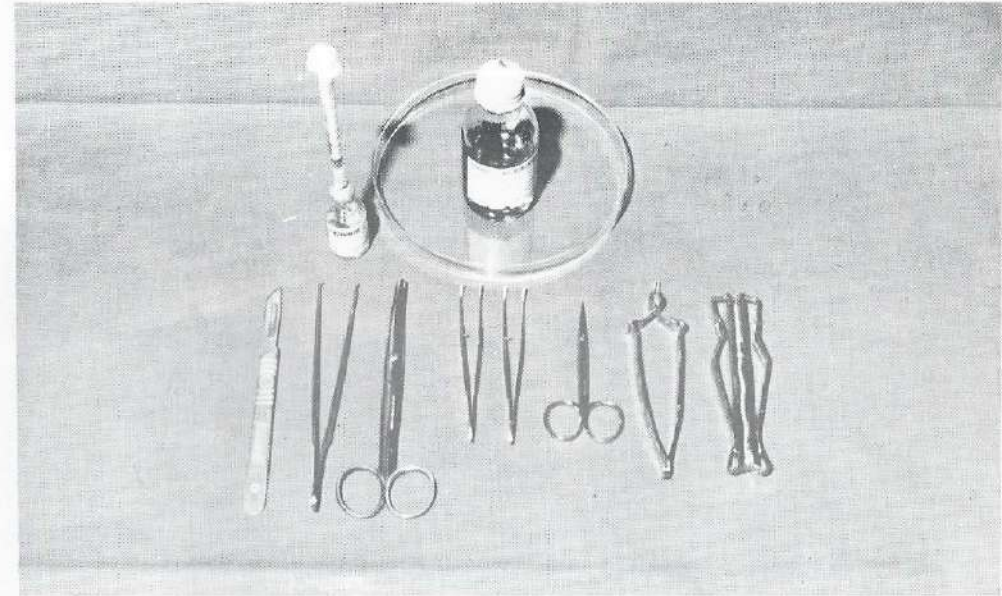
5-FU moet voor het verkrijgen van cytotoxische werking op tumorcellen hierin eerst worden omgezet tot een nucleotide. Uit experimenteel onderzoek is gebleken dat vooral het gevormde 5-fluoro-2-deoxyuridine-5-fosfaat (F-dUMP) verantwoordelijk is voor de cytotoxische werking. Deze stof kan in de cel op verschillende manieren uit 5-FU worden gevormd. Het is mogelijk om het complexe metabolisme tot één enzymreactie terug te brengen door in plaats van 5-FU fluoro-deoxyuridine (FdUR) toe te dienen. Deze stof is ook voor klinische toepassing ter beschikking. F-dUMP heeft een grote affiniteit voor het enzym thymidylaat synthetase. De remming van dit enzym is vermoedelijk verantwoordelijk voor het effect op de tumor (Heidelberger, 1965). Thymidylaat synthetase speelt een rol bij de levering van een methylgroep aan deoxyuridinezuur (dUMP). Bij de binding aan thymidylaat synthetase gaat F-dUMP competitie aan met dUMP. F-dUMP bindt zich echter 250 tot 1000 maal krachtiger aan het enzym dan dUMP. De uitschakeling van thymidylaat synthetase remt de synthese van thymidinezuur en tenslotte de synthese van DNA (Reyes en Heidelberger, 1965). Door de remming van de DNA-synthese met intact blijven van de DNA-synthese ontstaat een gestoorde celontwikkeling welke tenslotte de celoverleving bekort.

De werkzaamheid van 5-FU is vooral uitgesproken in sneldelende

weefsels. Hoewel is vastgesteld dat 5-FU de DNA-synthese blokkeert, wordt het cytostaticum - biologisch gezien - als een celcyclusspecifieke en niet als een fasespecifieke stof beschouwd.

III.4. Transplantatietechniek.

Het tumormateriaal voor de proeven is verkregen uit de donorratten welke door T.N.O. Rijswijk beschikbaar zijn gesteld. De donorlijn wordt aldaar aangehouden door tumorweefsel elke 4 à 5 weken dóór te transplanteren. Na 3 à 4 passages wordt teruggegrepen op de oorspronkelijke ingevroren tumor. In een latere fase van het onderzoek is het doortransplanteren naar de tweede, derde en vierde donorrat in het laboratorium van de Vrije Universiteit uitgevoerd.

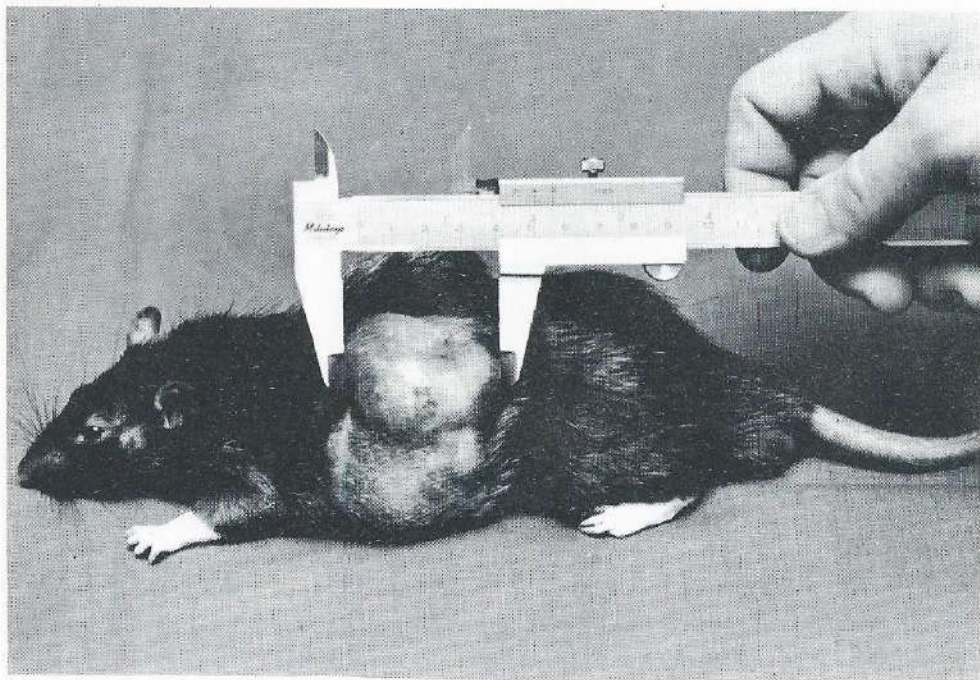


afb.3.

Instrumentarium voor implantatie van tumorweefsel: mes (blad 20 of 21), chirurgisch pincet, prepareerschaar, fijne gebogen chirurgische pincetten, fijne prepareerschaar met spitse punten, agrafe-verwijder-tang, agraftetang, Hypnorm met 1 ml injectiespuit, Hanks voedings-vloeistof, plastic Petri kweekschaal.

De transplantatie van tumorweefsel van donorrat naar receptorrat gaat als volgt:

Het dier wordt in narcose gebracht met 0,1 ml/100 g. lichaams-gewicht Hypnorm^R (fluanisone en phentanyl citraat, Philips-Duphar BV). De huid wordt met een tondeuse geschoren. Incisie over de tumor; met een schaar spreidend wordt het tumorweefsel gepresenteerd (afb.5). Zorgvuldig wordt gezocht naar delen van de tumor welke niet cysteus groeien. Eventueel is het noodzakelijk aanwezige cysten aan te snijden om solide tumorvelden te herkennen. Deze delen worden met het mes zonder het materiaal te 'crushen' losgeprepareerd en uitgenomen. Het tumorkapsel dient verwijderd te worden. Hierna wordt de tumor doorgesneden, waarna het weefsel kan worden beoordeeld.

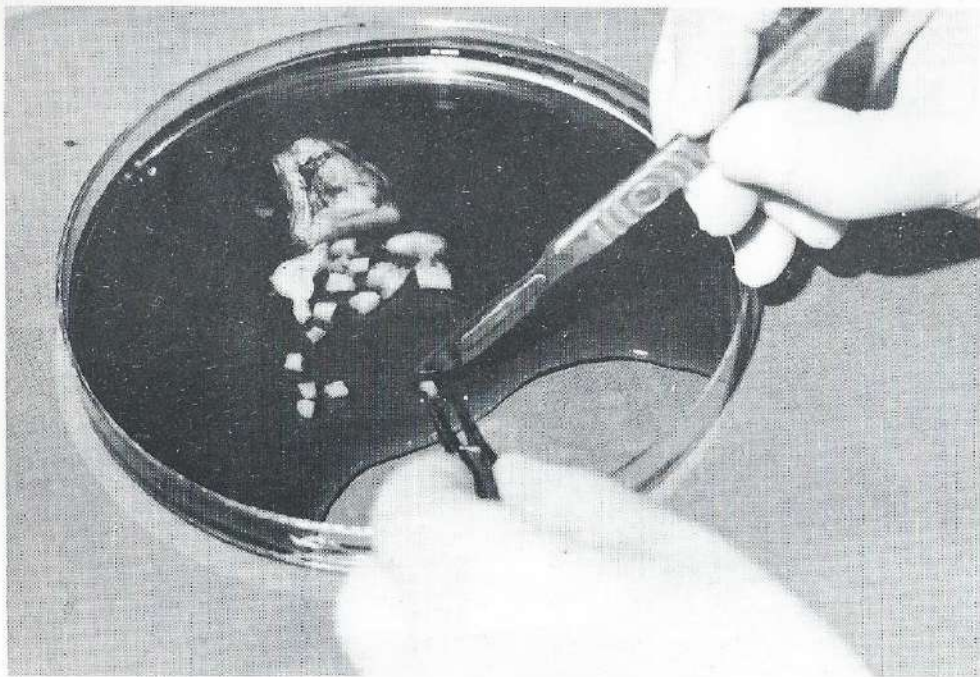


afb.4.
Donorrat met grote flanktumor.



afb.5.
Flanktumor van donorrat na klieven van de huid.

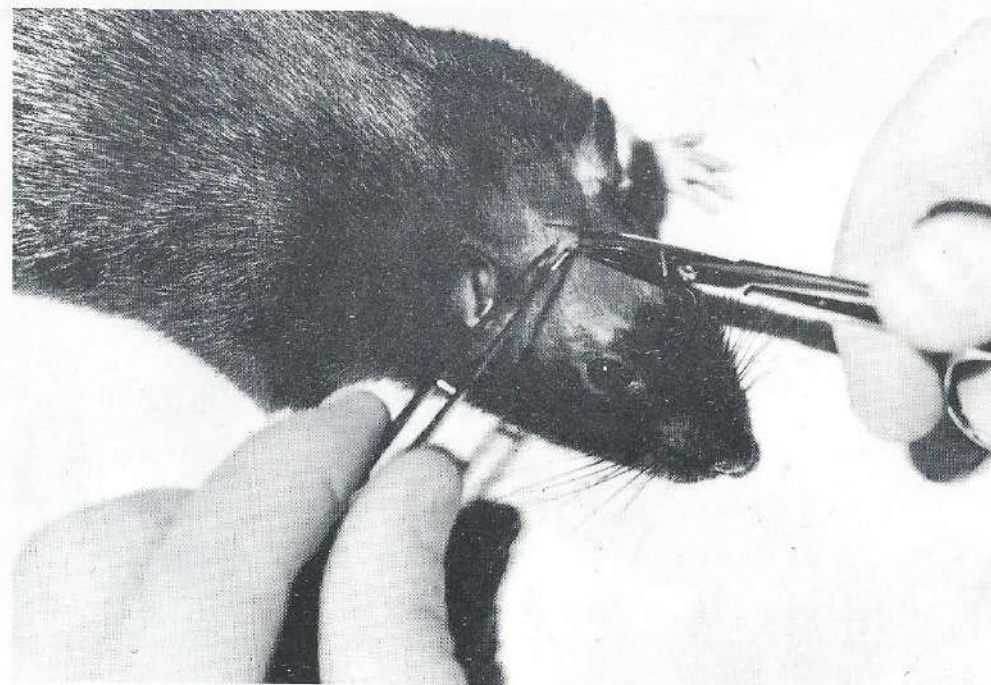
Eventueel necrotisch materiaal dient niet gebruikt te worden. Na verwijdering van de buitenste laag van de tumor worden repen weefsel circulair uitgeprepareerd. Zoveel mogelijk wordt getracht dit materiaal op een constante diepte ten opzichte van het oppervlak van de tumor te verkrijgen. Uit deze repen worden brokjes van 2x2x2 mm gesneden waarvan de maten met het oog worden geschat. Het snijden van de tumor vindt in een met Hanks vloeistof gevulde plastic kweekschaal plaats (afb.6). Bij het implanteren in de oren wordt bij ieder dier zoveel mogelijk getracht tumorweefsel in te brengen dat in de oorspronkelijke donortumor bij elkaar gelegen heeft. Met het opsnijden van de tumorbrokjes wordt daarmee rekening gehouden. Voor het aanhouden van de donorlijn wordt tumorweefsel geselecteerd en in brokjes van ongeveer 5x5x5 mm gesneden.



afb.6.
Snijden van tumorweefsel in plastic Petri kweekschal met Hanks voedingsvloeistof.

Het inbrengen van tumorweefsel in de oren van de receptorrat vindt plaats nadat het dier met 0,1 ml/100 gram lichaamsgewicht Hypnorm verdoofd is. Nadat de hoofdhuid tussen de oren met een tondeuse is geschoren wordt met de schaar een mediane incisie van ongeveer 1 cm lengte tussen beide oorschelpen gemaakt (afb. 7a). Met een fijn prepareerschaartje wordt de subcutis naar de voorranden van beide oorschelpen geopend waarna een tumorbrokje aan iedere zijde d.m.v. een gebogen chirurgische pincet wordt ingebracht (afb. 7b). Het tumorweefsel moet bij een goede ligging in de vrije voorrand van de oorschelp voelbaar zijn. Hierna wordt de incisie met een agrafe gesloten (afb. 7c).

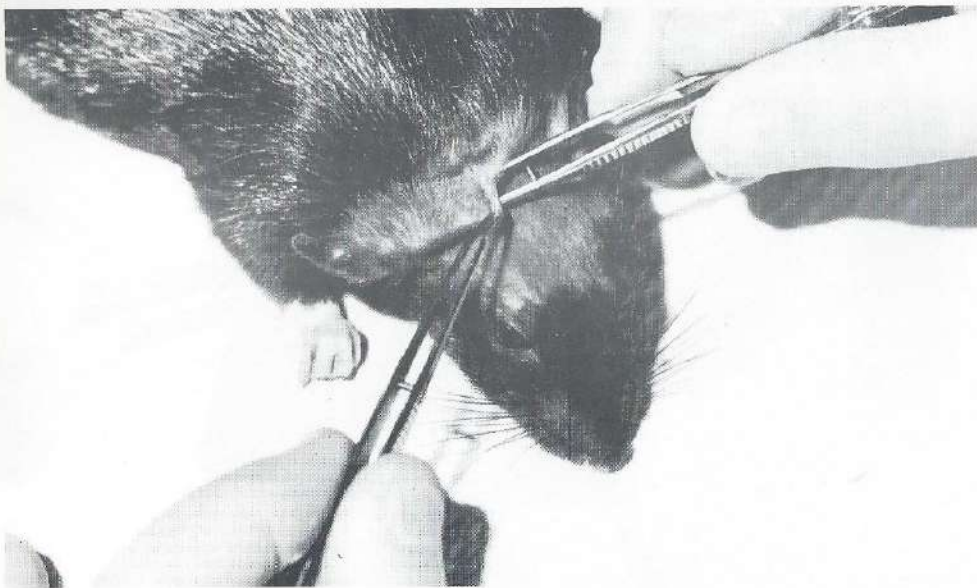
In het algemeen ontstaat na 18-21 dagen een goede tumor. Na onge-



afb.7a.
Implantatietechniek. Mediane incisie tussen de oorschelpen.

veer 28 dagen neigt bij enkele tumoren het oppervlak tot ulceratie. De infusiebehandeling begint daarom meestal na 3 weken (afb. 8).

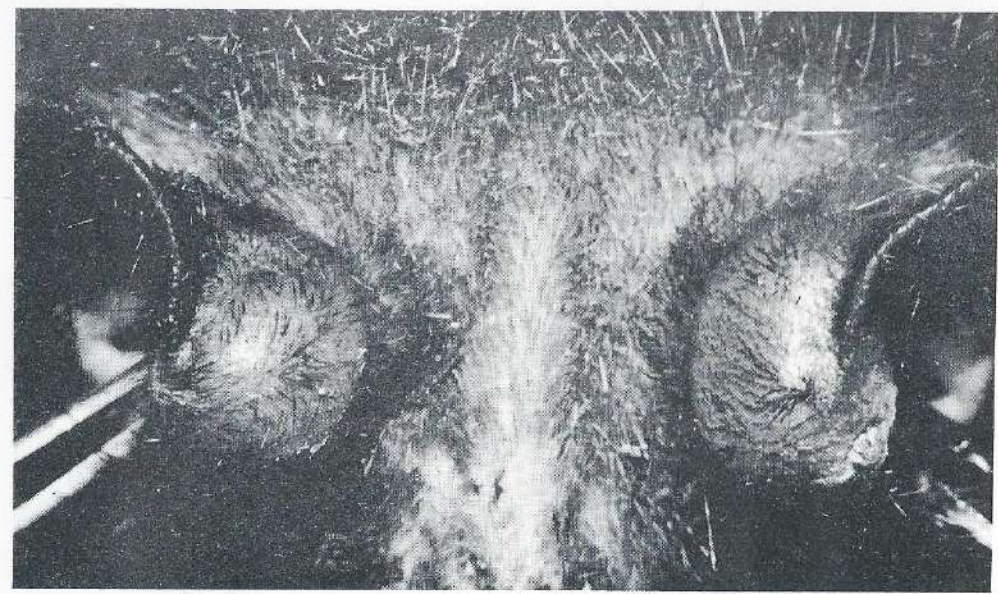
Implantatie van de tumoren voor de donorlijn vindt plaats door na Hypnorm-narcose een incisie van ongeveer 1 cm lengte in beide flanken te maken waarna met de prepareerschaar een diepe subcutane 'pocket' wordt gemaakt. Het is de bedoeling dat de tumor subcutaan en niet intra-musculair wordt geïmplantéerd. Sluiting van de incisie met agrafer.



afb.7b.
Implantatietechniek. Subcutaan opvoeren van een tumorbrokje naar de voorrand van de oorschelp.



afb.7c.
Implantatietechniek. Nadat in beide oorschelpen een tumorbrokje is aangebracht wordt de incisie met een agrafe gesloten.



afb.8.
Geïmplanteerde tumoren in beide oorschelpen, geschikt voor infusie, drie weken na implantatie.

III.5. Operatietechniek.

In chronologische volgorde wordt hierna de volledige procedure van de canulatie van de arteria maxillaris externa behandeld.

Er worden daarbij drie fasen onderscheiden:

- a) pre-operatieve voorbereidingen
- b) operatie
- c) aansluiting infusiesysteem.

III.5.a Pre-operatieve voorbereiding.

Voor de algehele anaesthesie wordt Hypnorm (fluanisone en phentanyl citraat, Philips-Duphar BV) in een dosis van 0,1 ml/100 g lichaamsgewicht intramusculair toegediend. Na ongeveer 5 minuten is de rat bruikbaar voor operatie. De vacht aan de ventrale en dorsale zijde van de hals wordt met een elektrische tondeuse geschoren. Hierna wordt het lichaamsgewicht met een balans, welke

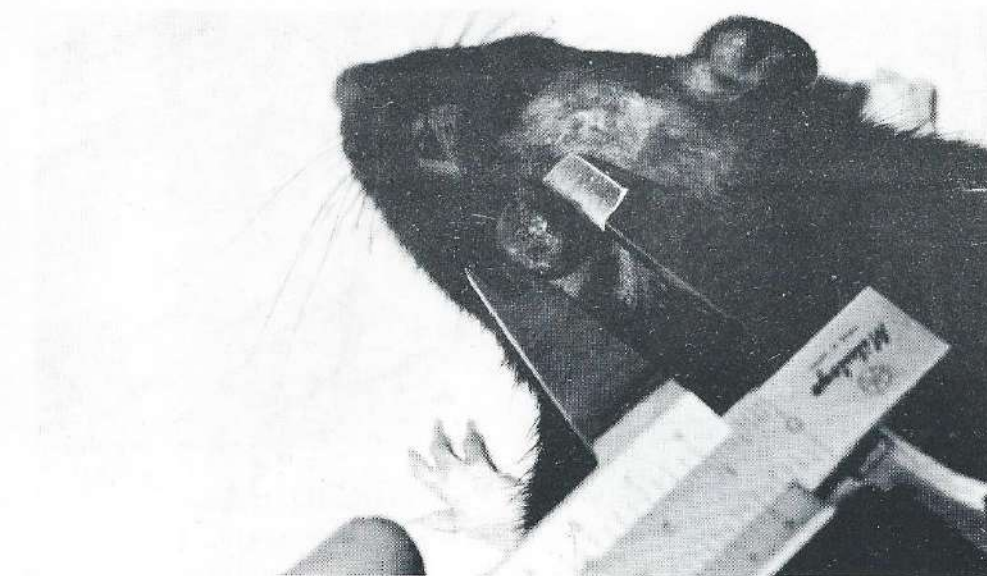
tot een gram nauwkeurig afleesbaar is, vastgesteld. Beide tumoren worden daarop twee maal in drie richtingen met een schuifmaat gemeten (afb. 9a, b, c). Eerst wordt de grootste lengte in millimeters genoteerd waarna de breedte van de tumor loodrecht daarop wordt gemeten en tenslotte volgt meting van de hoogte welke loodrecht op het vlak van de eerste twee voorgaande metingen wordt uitgevoerd. Het produkt van deze drie getallen wordt aangeduid als 'het tumorvolume' en vormt een maat voor de ware inhoud ervan (zie II.2.c). Wanneer beide opeenvolgende 'volumes' van elkaar verschillen kan een derde serie metingen worden uitgevoerd om de kans op fouten te verkleinen. Uit deze reeks van drie serie metingen wordt het gemiddelde genomen van de twee series die het meest met elkaar overeenkomen. In de praktijk zijn er vrijwel altijd twee identieke serie metingen. De diameters worden op een halve milli-



afb.9a.
Tumormeting. Met de schuifmaat wordt de 'lengte' gemeten.



afb.9b.
Tumormeting. Met de schuifmaat wordt loodrecht daarop de 'breedte' gemeten.



afb.9c.
Tumormeting. Met de schuifmaat wordt loodrecht op het vlak van de eerste twee metingen de 'hoogte' gemeten, waartoe de oorschelp wordt omgeklapt.

meter nauwkeurig afgelezen. Tenslotte wordt het proefdier op de staart genummerd.

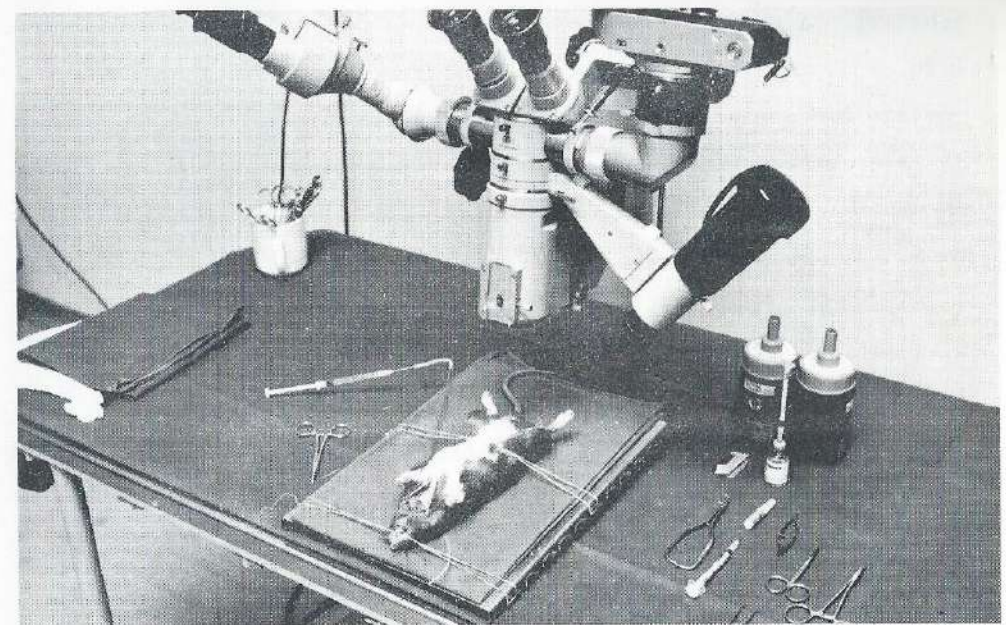
III.5.b Operatie.

De rat wordt op een kurken plankje door middel van elastieken teugeltjes gefixeerd (afb. 11). Aan de ventrale zijde van de hals wordt de huid en subcutis van submentaal tot juist boven het sternum in de mediaanlijn gekliefd (afb. 12). Hierna volgt splijting van de fascia superficialis colli. Het dier wordt nu op de buik gekeerd waarna de huid aan de dorsale zijde van de nek in de



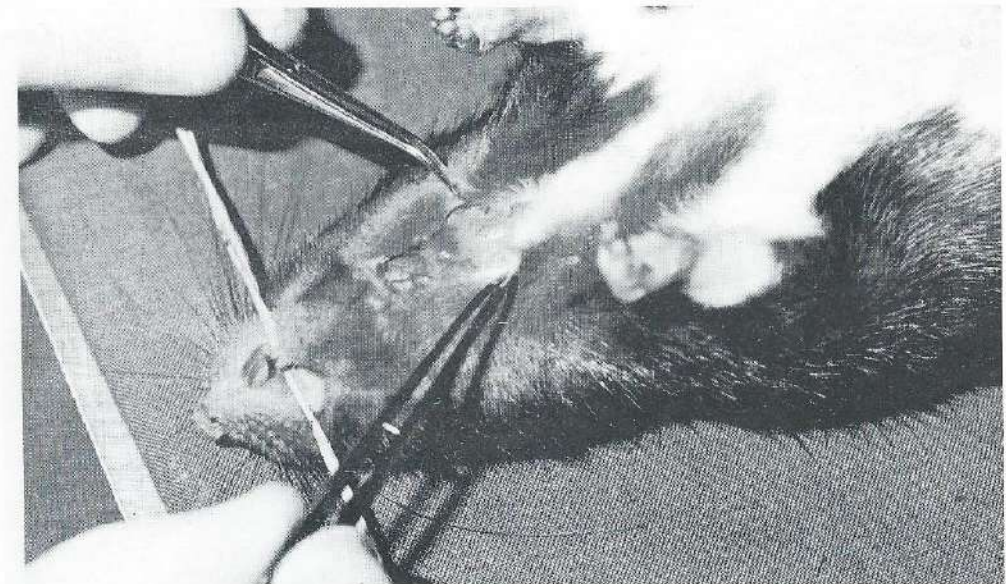
afb.10.

Instrumentarium voor catheterisatie: schuifmaat, 'Vannas' iris-schaartje, fijne naaldvoerder met gebogen ronde naald, fijne rechte en gebogen prepareerschaartjes met stompe uiteinden, ooglid-spreider, 1 ml spuit met 90° verbogen intradermale naald, Alpha Aaron histo-acryllijm, 1 ampul 'patent blue violet', rechte anatomische en chirurgische pincetten, moskitoklemmen, tampons, zijden hechtmateriaal 2/0 en 5/0.



afb.11.

Rat door middel van elastieken teugeltjes op werkplateau bevestigd. Zeiss operatiemicroscop.

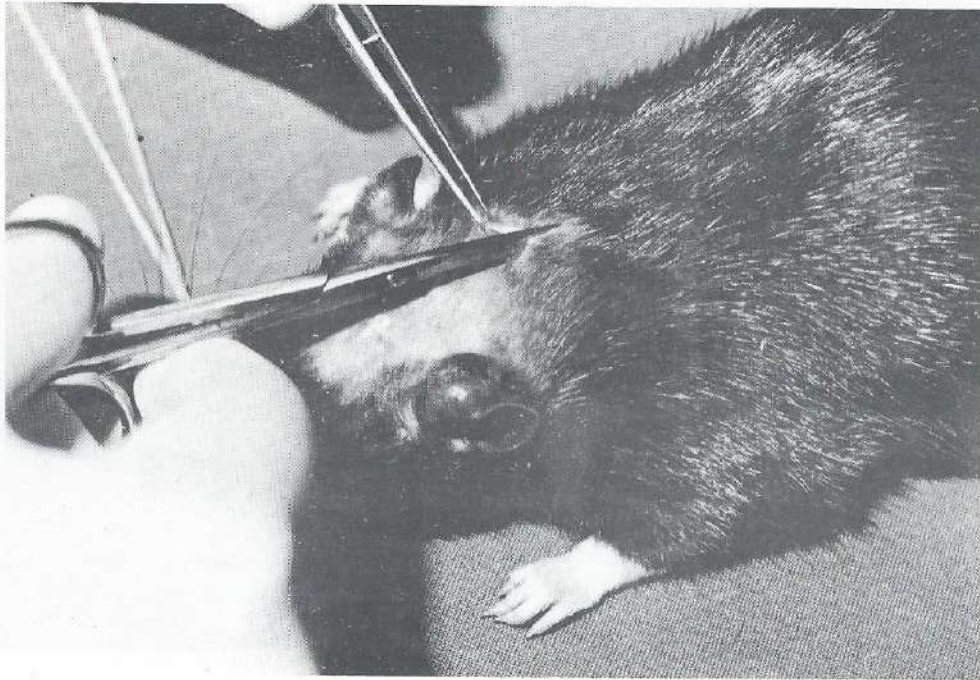


afb.12.

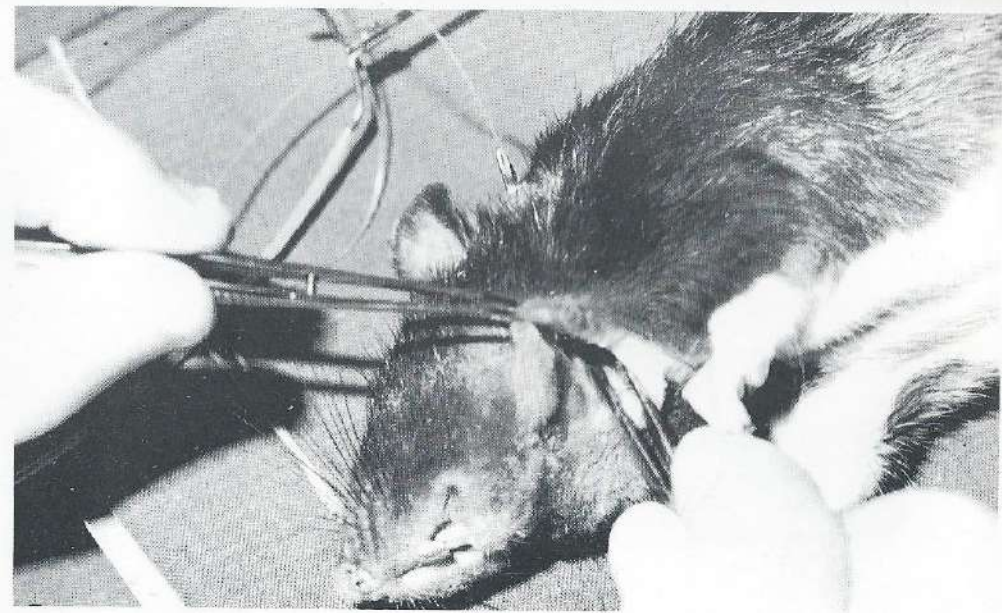
Operatietechniek. Klieven van de huid aan de ventrale zijde van de hals.

lengterichting over ongeveer 1 cm afstand wordt geïncideerd (afb. 13). Een fijne anatomische pincet wordt vanuit de ventrale incisie subcutaan opgevoerd naar de dorsale incisie. Het einde van de PP10 catheter welke van tevoren is klaargemaakt wordt dan door de pincet terug te trekken van dorsaal naar ventraal doorgevoerd (afb. 14). De stalen canule (afb. 15b) met uitgetrokken en doorgevoerde PP10 catheter wordt nu ingehecht (afb. 16).

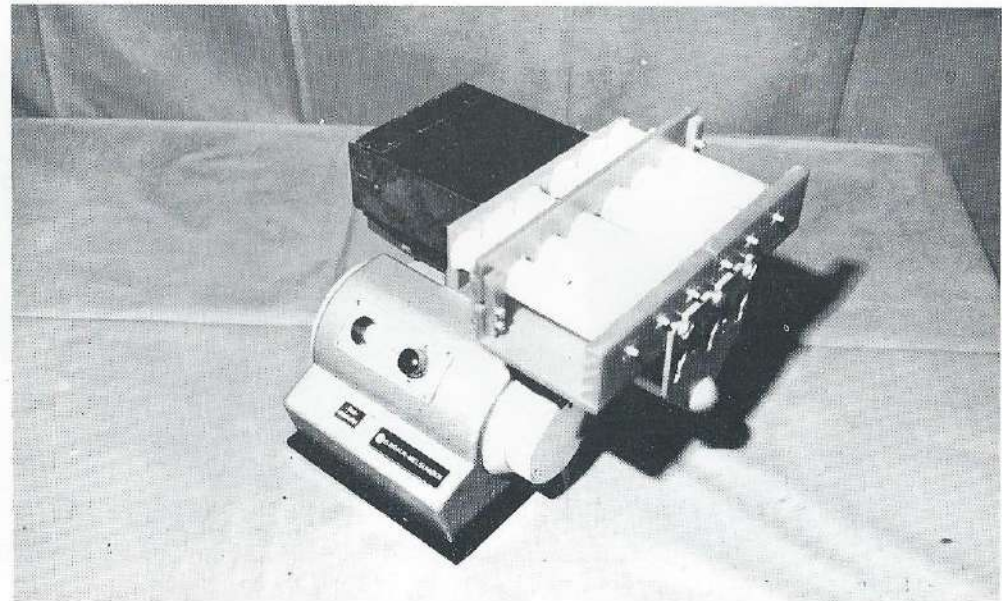
Nu wordt het dier weer met behulp van de elastieken teugeltjes op de rug gefixeerd. Met het blote oog worden beide glandulae submandibulares met behulp van een fijn prepareerschaartje losgeprepareerd en naar lateraal omgeklapt. Een fijne ooglidspreider zoals in de veterinaire kliniek wordt gebruikt houdt het wondgebied goed open (afb. 17). Door het weefsel juist lateraal van de voorste buik van de musculus digastricus (afb. 18) te spreiden ontstaat zicht op het



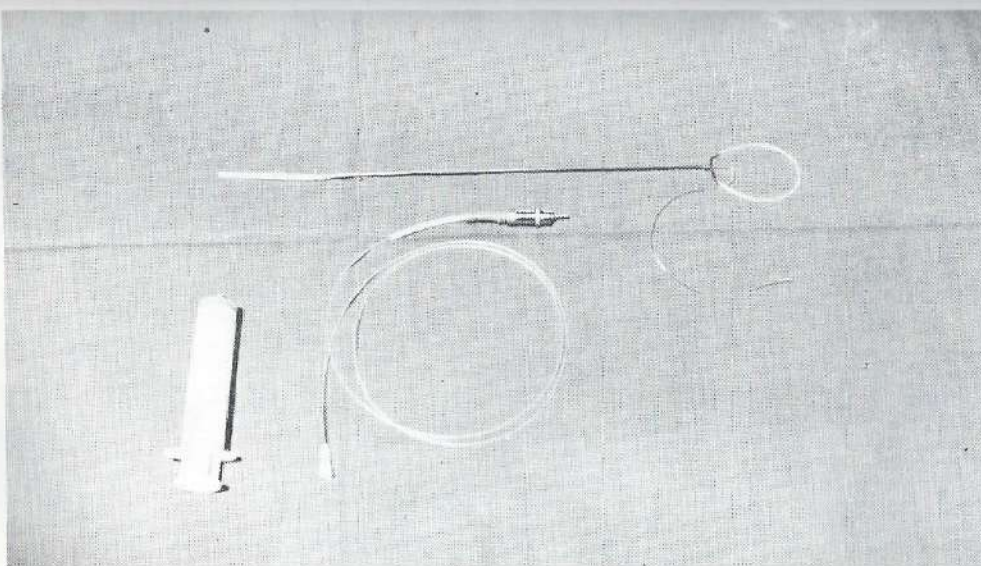
afb.13.
Operatietechniek. Klieven van de huid aan de dorsale zijde van de hals.



afb.14.
Operatietechniek. Subcutaan doorvoeren van de polyethyleen catheter PP10 van dorsale naar ventrale incisie m.b.v. een anatomisch pincet.



afb.15a.
Braun infusiepomp met plateau voor zes 20 ml injectiespuiten.



afb.15b.

20 ml injectiespuit, polyethyleen catheter PP50 met injectienaald welke de injectiespuit met de draaikoppeling ('swivel') verbindt, en de knaagresistente canule met gaffel en polyethyleen 'halsband'.



afb.16.

Operatietechniek. De ingehechte stalen canule met gaffel en nog niet bevestigde polyethyleen 'halsband'.

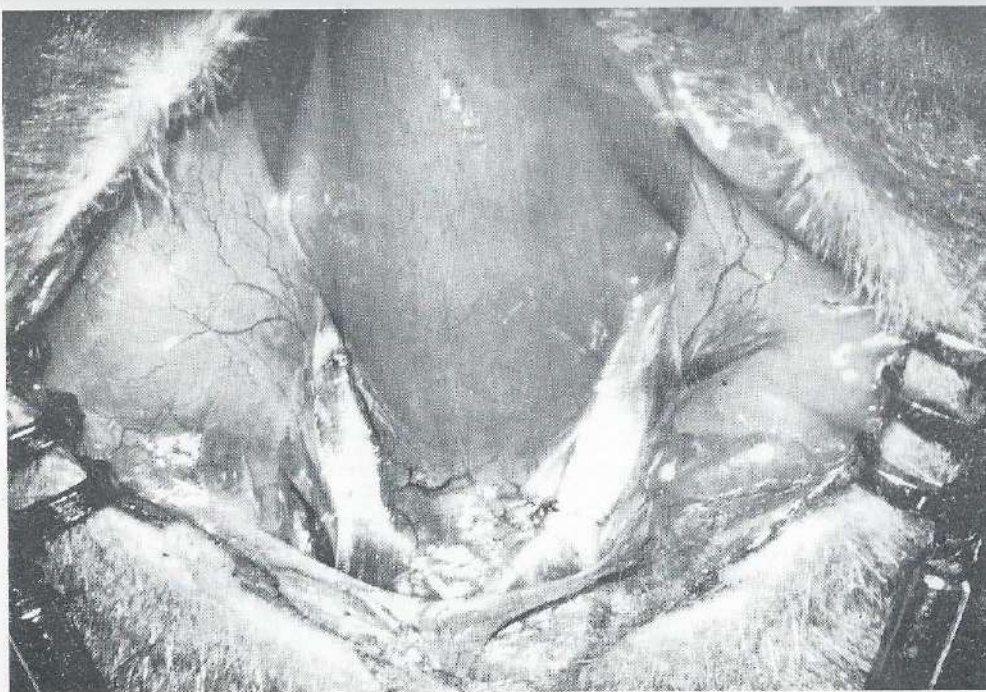


afb.17.

Operatietechniek. Spreiden van het operatiegebied aan de ventrale zijde van de hals. Linksboven in het beeld is de doorgevoerde PP10-catheter zichtbaar.

verloop van de arteria maxillaris externa welke eerst craniaal met zijden 5-0 wordt afgebonden (afb. 19). De draad dient daarna als teugel om het vat aan te spannen. Bij het voortzetten van de operatie wordt gebruik gemaakt van een Zeiss-operatiemicroscoop met electrisch bediende zoomoptiek en statiefinstelling. Aanvankelijk wordt met een vergroting van ongeveer 8 maal gewerkt. Met behulp van het zoomoptiek kunnen bepaalde details op eenvoudige wijze sterker vergroot worden.

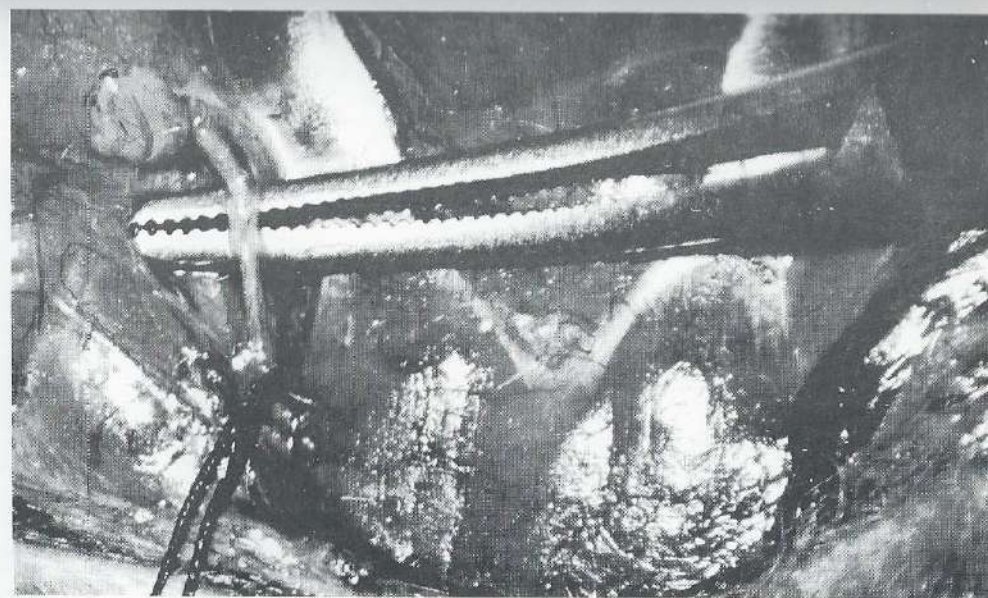
Wanneer de arteria maxillaris externa voorzichtig naar caudaal vervolgd wordt komt men eerst een naar mediaal afgaande zijtak tegen. Deze wordt met zijden 5-0 afgebonden (afb. 20). Verder



afb.18.

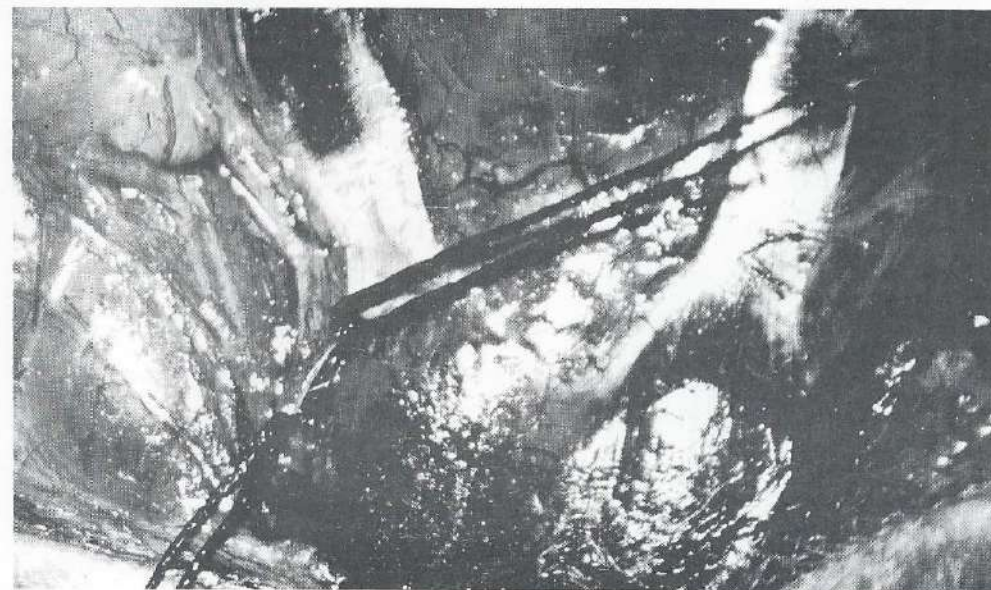
Operatietechniek. Beide glandulae submandibulares zijn naar lateraal gemobiliseerd. De pezen van de muscoli digastrici zijn duidelijk te zien. Juist lateraal van de linker pees wordt de arteria maxillaris externa zichtbaar.

naar caudaal preparerend wordt de arteria carotis externa bereikt welke juist lateraal van de pees van de musculus digastricus scherp naar lateraal afbuigt juist daar waar de arteria maxillaris externa afgaat. Meestal bevindt zich over het verloop van de arteria maxillaris externa een venenet dat dan zo mogelijk wordt losgeprepareerd en gemobiliseerd. Zo nodig wordt de vene opgeofferd. Van belang is verder dat de arteria maxillaris externa zorgvuldig van de tunica adventitia wordt ontdaan waarbij een glad oppervlak van het vat wordt verkregen. Een losse teugel, zijden 3-0, wordt aan het caudale einde onder het vat doorgehaald



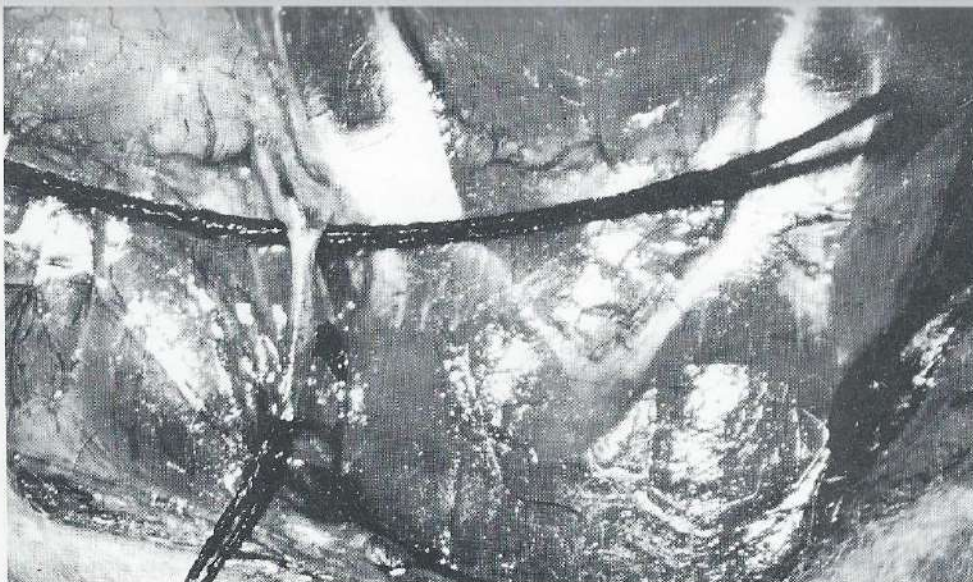
afb.19.

Operatietechniek. De linker arteria maxillaris externa met zijden ligatuur aan de craniale zijde.



afb.20.

Operatietechniek. Afbinden van de naar mediaan verlopende zijtak van de arteria maxillaris externa.



afb.21.
Operatietechniek. Aanleggen van de caudale teugel rond de arteria maxillaris externa.

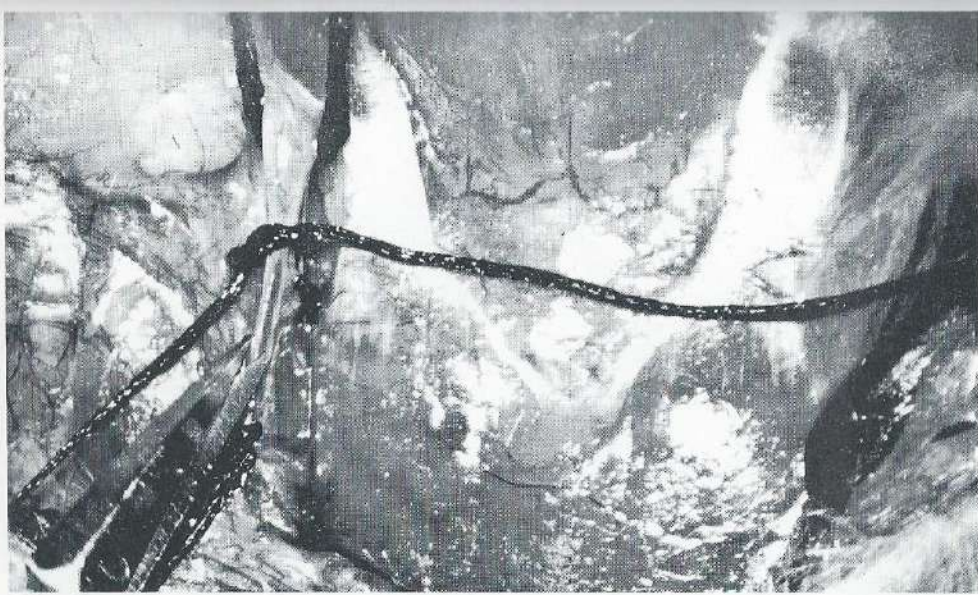
zodat de circulatie met aanspannen gestremd wordt (afb. 21). Een tweede zijden draad (5-0) wordt los om het vat geknoopt en dient later voor het fixeren van de canule in het vat (afb. 22). Het inmiddels gestuwde vat wordt tussen de caudale en craniale teugels aangespannen en in het craniale 1/3 deel met behulp van een fijne anatomische pincet en een recht irisschaartje geopend (afb. 23). De incisie is in dwarse richting en het is verstandig deze in één knipje te maken. Een intradermale naald waarvan de punt onder een hoek van 90° is verbogen wordt gebruikt om volgens het 'schoenlepelprincipe' het inbrengen van de canule te vereenvoudigen. Door met één hand de verbogen naald welke op een kleine injectiespuit is geplaatst en met de andere hand het cathetereinde door middel van een fijne gebogen anatomische pincet te manipuleren, kan deze retrograad in de arteria maxillaris externa worden



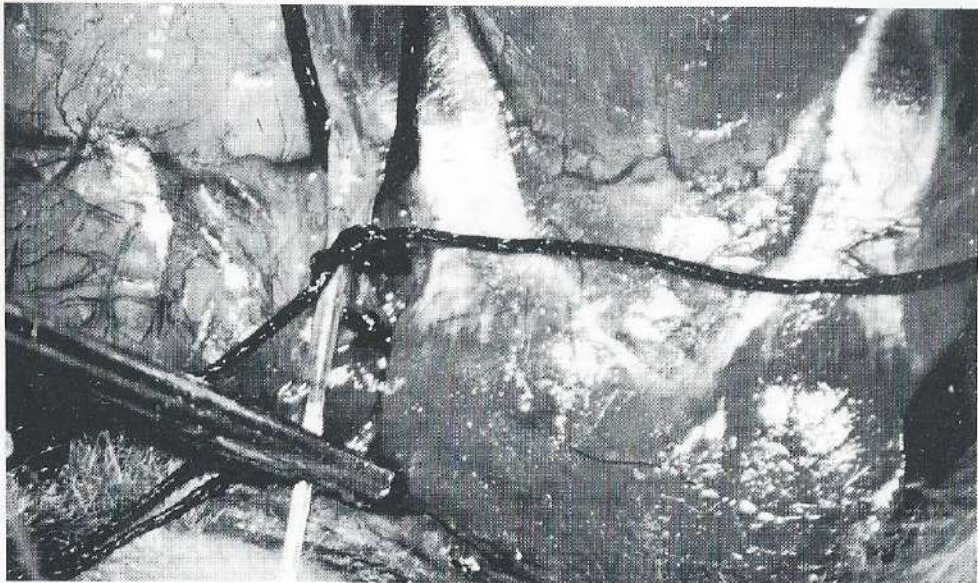
afb.22.
Operatietechniek. Aanspannen caudale en craniale teugels. Aanleggen van een losse ligatuur welke later zal dienen ter fixatie van de catheter in het vat.

ingebracht (afb. 24). De tip van de catheter dient tot in het traject tussen de afgebonden mediale zijtak en de arteria carotis externa te worden opgeschoven (afb. 25).

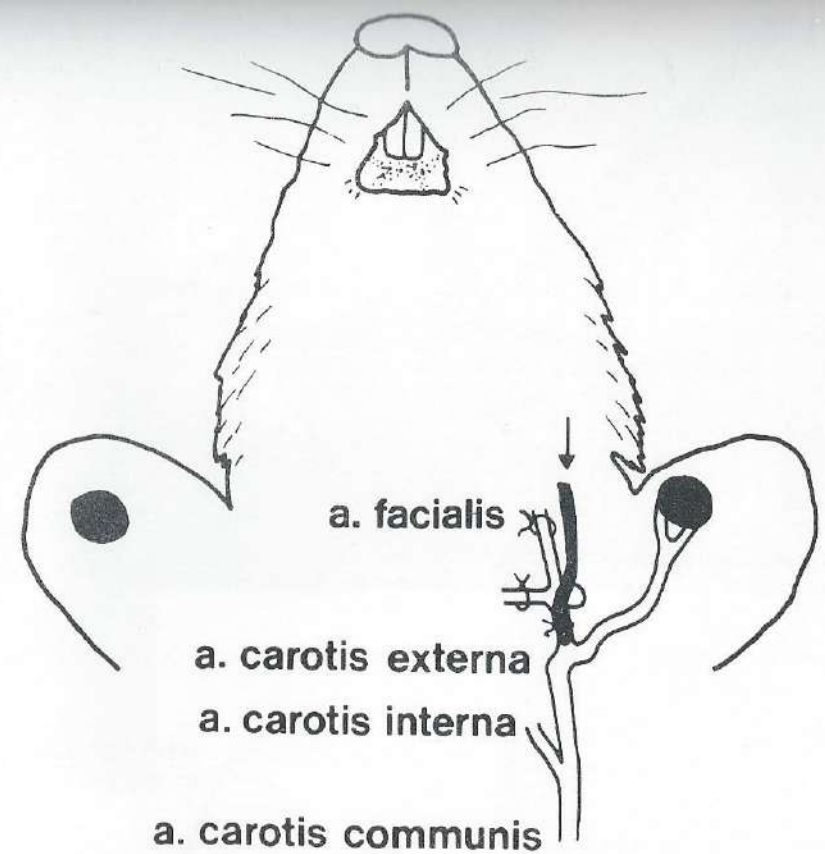
De reeds aangebrachte zijden ligatuur wordt rond het vat aangehaald en één maal geknoopt (afb. 26). De catheter blijft hierdoor goed op zijn plaats maar kan nog zonodig verschoven worden. De caudale teugel welke voor de stremming van de circulatie diende wordt gevierd waarna de catheter retrograad met bloed wordt gevuld. De positie van de tip wordt gecontroleerd door middel van een injectie met 'patent blue violet'. Hiertoe wordt een 1 ml disposable injectiespuitje met een sterke oplossing van deze stof



afb.23.
Operatietechniek. Openen van de arteria maxillaris externa d.m.v. het irisschaartje.

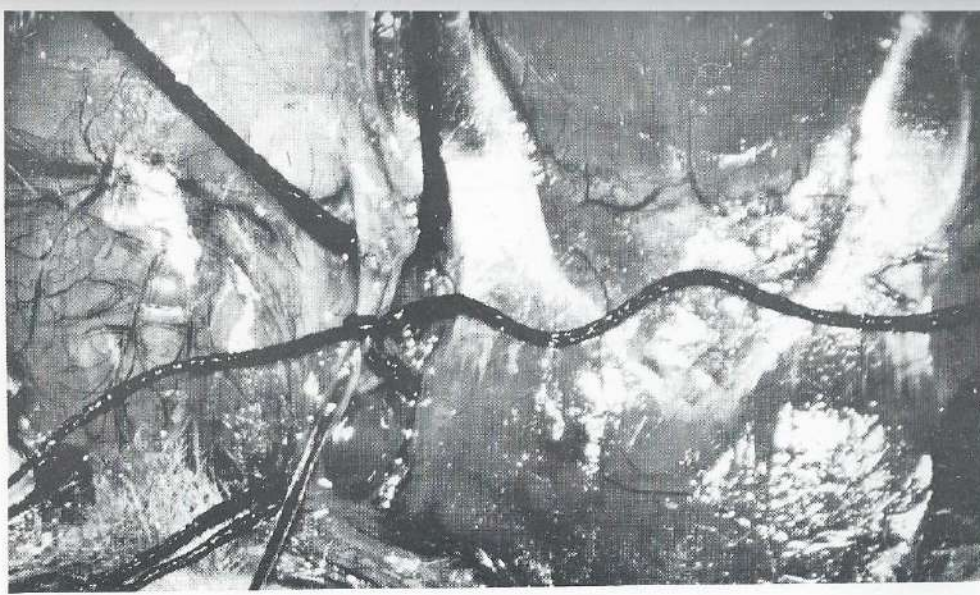


afb.24.
Operatietechniek. Opvoeren van de polyethyleencatheter PP10 in de arteria maxillaris externa d.m.v. een anatomische pincet.

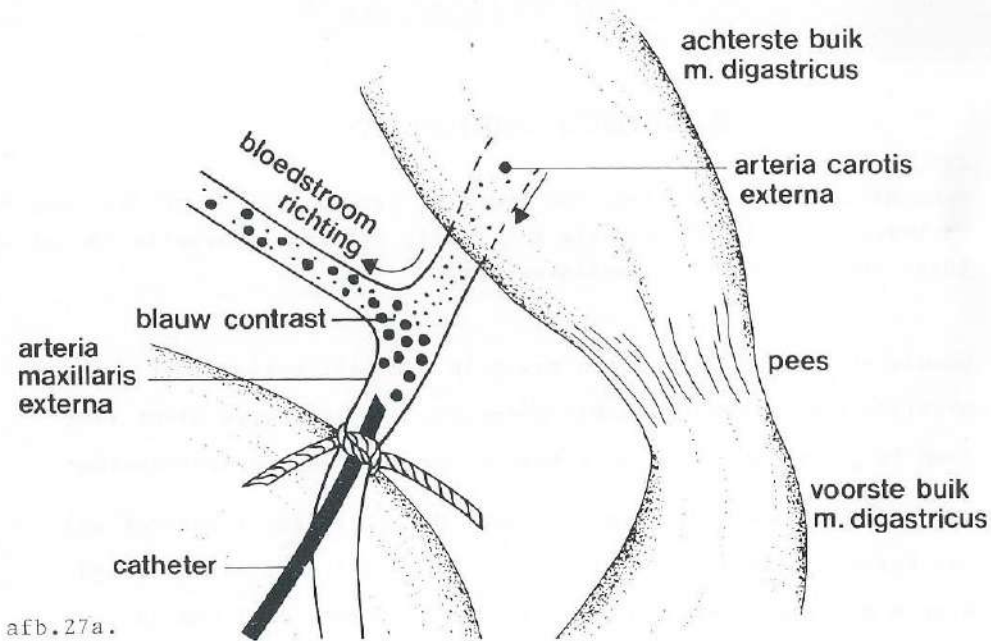


afb.25.
Schematische voorstelling, van ventraal gezien, van de positie van de catheter in de linker arteria maxillaris externa (= arteria facialis) juist vóór de arteria carotis externa.

gevuld en met behulp van een naald in het siliconslangetje aan het uiteinde van de stalen canule gespoten. Het inspuiten dient langzaam te gebeuren, zodat de situatie zoveel mogelijk overeenstemt met infusie door middel van de pomp. De ingespoten kleurstof zal bij bereiken van de arteria carotis externa aldaar met de bloedstroom mee gaan. Dat betekent dat het afferente deel van de arteria carotis externa niet blauw kleurt maar wel het efferente deel (afb. 27a, b). Dit kan ook gecontroleerd worden doordat het



afb.26.
Operatietechniek. Knopen van de ligatuur rondom de arteria maxillaris externa en de catheter.



afb.27a.
Schematische voorstelling van de weg welke het ingespoten 'patent blue violet' volgt.

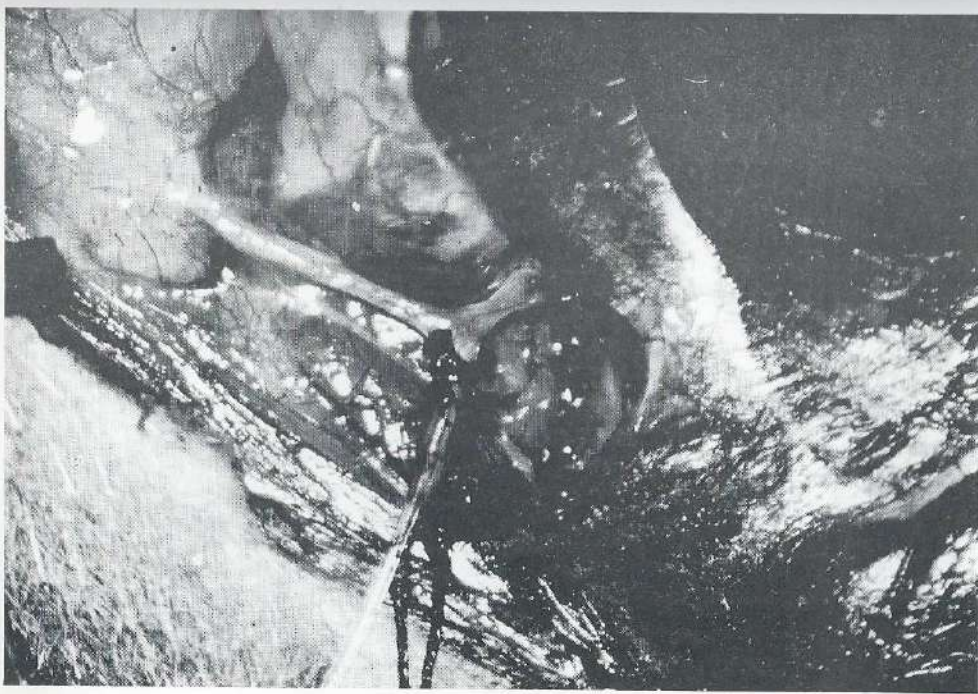


afb.27b.
Operatietechniek. De situatie zoals in 27a schematisch is weergegeven onder de microscoop gezien (vergroting 12 x) na inspuiting van 'patent blue violet'. Het contrast buigt op de foto naar links af (met de efferente bloedstroom van de arteria carotis externa mee).

gebied rond de larynx niet blauw kleurt omdat de kleurstof de arteria thyreoidea superior niet bereikt. Bij een juiste ligging van de canule kleuren vooral de linker oorschelp met de tumor (afb. 28), een deel van de hoofdhuid links van de mediaanlijn, de linker oogleden, het gebied rond het linker neusgat en meestal de linker helft van de tong.

In de zojuist geschetste fase van de canulatie kunnen enkele fouten worden gemaakt die de aandacht vragen:

1) het niet zorgvuldig verwijderen van de tunica adventitia kan tot een 'fausse route' leiden waardoor de canule niet in het lumen

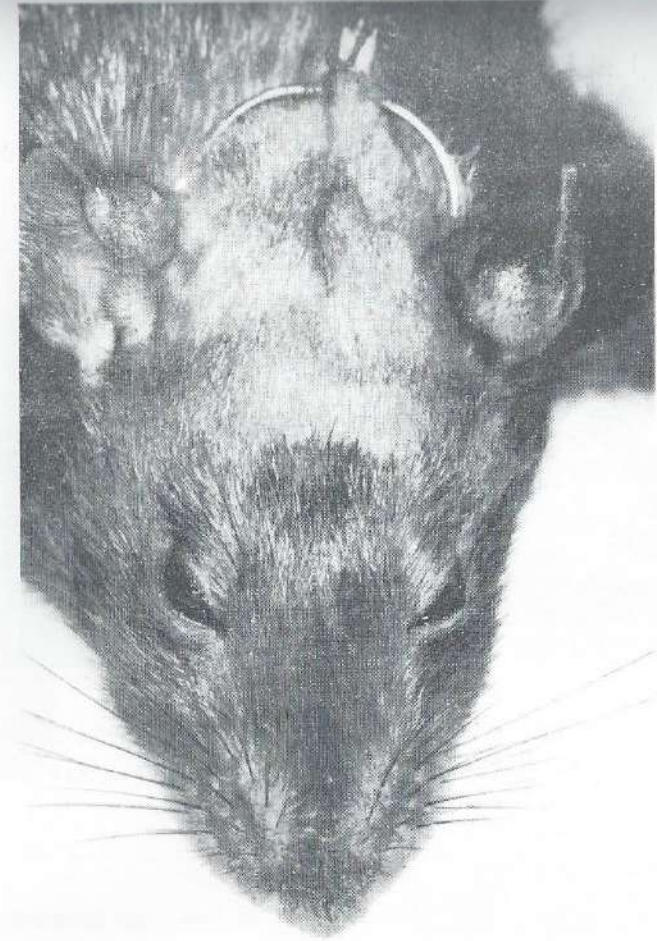


afb.27c.
Operatietechniek. Na inspuiten met een fysiologische zoutoplossing ontkleurt het verloop van de arteria carotis externa door verdringing van bloed.

van de arteria maxillaris externa uitmondt. Het feit dat de canule zich echter niet retrograad met bloed vult en de blauwkleuring ook geen gewenst resultaat oplevert geven hierover uitsluitel.

2) spits afsnijden van de canuletip verhoogt de kans op perforatie van de vaatwand. Dit kan zowel ter plaatse leiden tot trombose van het vat, met verstopping van het infusiesysteem, als tot een heftige bloeding in de hals welke vaak pas na enkele dagen optreedt. Dit leidt meestal tot de dood van het proefdier. Derhalve is het van belang de canuletip met een scheermesje recht af te snijden.

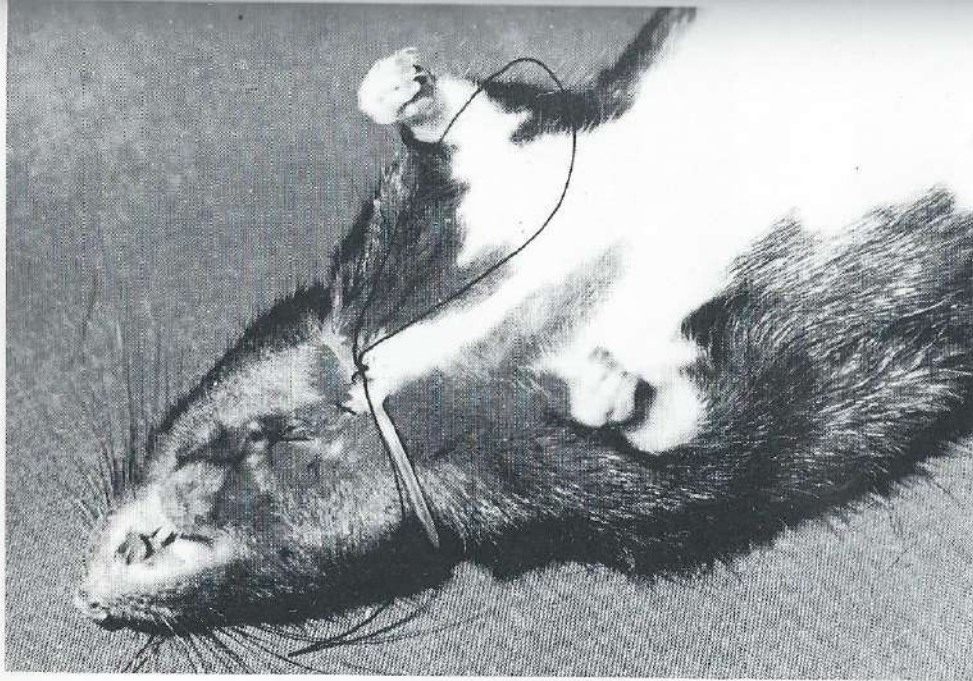
3) bij te ver opvoeren van de canule belandt deze in het afferente deel van de arteria carotis externa waardoor het infusaat de arte-



afb.28.
Blauwverkleuring van de (linker) regionaal doorstroomde tumor na inspuiting van 'patent blue violet' in de arteria maxillaris exteri

ria carotis externa retrograad zal vullen, evenals de meer proximaal gelegen vertakkingen. Meestal ziet men dan blauwkleuring in de halmsculatuur rond de larynx en de schildklier. De blauwkleuring van de linker oorschelp blijft daarbij achterwege.

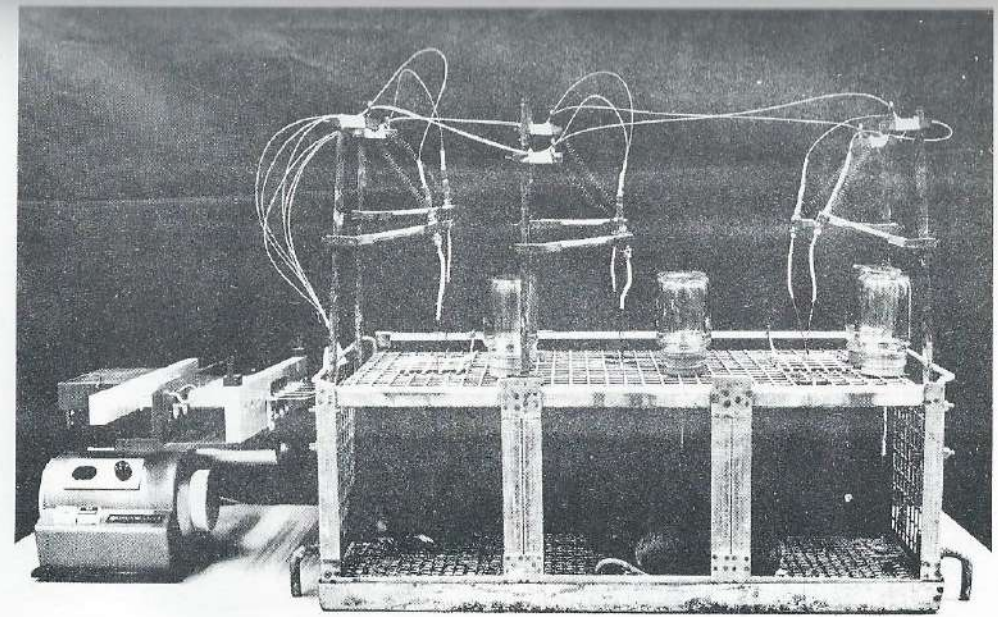
4) bij onvoldoende ver inbrengen van de canule, met name wanneer de tip de afgebonden mediale zijtak van de arteria maxillaris



afb.29.

Operatietechniek. Sluiting van de ventrale incisie met een doorlopende hechting. Het einde van de draad wordt voor fixatie van de 'halsband' gebruikt.

externa nog niet heeft bereikt, is de kans op trombose in dit afgebonden traject verhoogd. Dit leidt dan meestal in een vroeg stadium van de behandeling tot verstopping van het infusiesysteem. Controle van de catheterligging met blauwkleuring is bij alle proeven in 1973 en 1974 uitgevoerd. Bij toenemen van de operatieve routine bleek echter dat de canule slechts zelden onjuist werd ingebracht. Alleen optreden van de 'fausse route' was zonder blauwkleurstofinjectie soms moeilijk uit te sluiten. Aangezien de contrastinjectie een extra arbeidsbelasting betekende werd gezocht naar een eenvoudige methode waarmee de catheterligging kon worden gecontroleerd. Met inspuiten van fysiologisch zout/heparinemengsel



afb.30.

Aansluiting infusiesysteem.

Overzicht van de proefopstelling voor intra-arteriële infusie waarbij de ratten d.m.v. een stalen canule en een 'swivel' verbonden zijn met het aanvoerende infusiesysteem.

ontstond een duidelijke 'ontkleuring' van het efferente deel van de arteria carotis externa door verdringing van bloed, vooral als dit met relatief krachtige maar korte 'shots' werd toegediend (afb. 27c). Bij beëindigen van de druk op de injectiespuit vult de arteria carotis externa zich weer volledig met bloed. Deze test kost slechts luttele seconden en informeert ons over het feit of de catheter inderdaad onbelemmerd uitmondt in het lumen van de arteria maxillaris externa. De plaats van de tip t.o.v. de afgang van de arteria maxillaris externa wordt met het oog geschat en in de praktijk blijkt deze methode voor een geoefende betrouwbaar te zijn. Bij twijfel wordt vanzelfsprekend van de

contrastinjectie gebruik gemaakt. De uitkomsten van beide methoden bleken nooit met elkaar strijdig te zijn.

Nadat de juiste plaats van de catheter vast staat wordt de ligatuur rondom het vat en de catheter definitief geknoopt. De craniale teugel welke gebruikt is om de arteria maxillaris externa af te binden wordt gebruikt om de catheter op een tweede punt aan het vat vast te leggen zodat deze zich fraai in het verloop van de arteria maxillaris externa bevindt. Dit vermindert de kans op losraken van de catheter of perforatie van het vat. Tenslotte wordt de catheter met histo-acryllijm (Alpha Aaron^(R)) aan het bloedvat vastgezet waarbij vooral de intreeplaats van de catheter in de arteria maxillaris externa zorgvuldig met lijm wordt bedekt. In de infusieseries in 1973 raakte een hoog percentage van de catheters los. Sinds de toepassing van histo-acryllijm behoort deze complicatie tot de zeldzaamheden.

Na uitnemen van de wondspreader worden beide speekselklieren naar mediaal teruggeklapt en de huid wordt met één doorlopende zijden draad (3-0) van submentaal naar suprasternaal gesloten. Aan het einde van de wondsluiting wordt het vrije uiteinde van de draad gebruikt om de polyethyleen 'halsband' in de mediaanlijn aan de huid te fixeren (afb. 29). Het vrije uiteinde van de polyethyleen 'halsband' wordt nu dorsaal van de hals over de stalen gaffel geschoven waarmee de fixatie voltooid is (afb.1).

III.5.c Aansluiting infusiesysteem.

Het proefdier wordt nu met de stalen canule naar de bestemde kooi gebracht en door middel van het siliconslangetje aan de 'swivel' gekoppeld (afb. 30). Voordat dit gebeurt wordt de infusiepomp (Braun, Unita I, afb. 15a) gedurende een halve minuut op een hogere stand gezet om het volledige traject van het infusiesysteem met

heparine/fysiologisch zout mengsel te vullen. Ook na aansluiting van de rat blijft de infusiepomp een minuut lang op een hogere stand staan. Dit vermindert de kans op stasis en dus stolling in het cathetertipgebied. Daarna wordt de infusiesnelheid op 3,57 ml/24 uur ingesteld (zie II.4.c). De complete catheterisatie kost in geoefende handen 15 minuten, voor de minder ervarene dient op 30 tot 40 minuten gerekend te worden.

III.6. Praktische begeleiding van de infusie.

Al naar gelang van de beschikbare tijd en het aantal ratten dat ter beschikking staat worden in één infusieserie doorgaans zes tot twaalf dieren gecanuleerd. Hiertoe moeten één à twee kooien worden ingericht. Iedere kooi kan namelijk aan zes dieren onderdak bieden. Gestreefd wordt naar twee controledieren op een serie van zes ratten. Deze worden met een heparine/fysiologische zout oplossing geïnfundeerd. Om praktische redenen is de infusieduur op zeven dagen (168 uur) vastgesteld, zodat de resultaten in principe vergelijkbaar zijn met de uitkomsten van Sindram. Van essentieel belang voor de betrouwbaarheid van de infusieresultaten is dat het toegediende cytostaticum inderdaad de linker tumor regionaal doorstroomt. Controle hiervan kan na loskoppelen van het siliconslangetje van de 'swivel' met een 'patent blue violet' injectie worden uitgevoerd. Bij goede positie van de catheter zal de regionaal doorstroomde tumor blauw kleuren. In de praktijk is gebleken dat ook volstaan kan worden met een injectie van een fysiologische zoutoplossing. Hierbij voelt men direkt of het infusiesysteem goed doorgankelijk is. Verder is gebleken dat bij goede ligging van de catheter de rat bij doorspuiten met de fysiologische zoutoplossing de kop heftig schudt en daarbij het regionaal doorstroomde oor krabt. Deze bevinding is veelvuldig met

'patent blue violet' injecties geverifieerd en is nimmer vals positief bevonden. Aangezien inspuiten van blauwcontrast wel eens tot de dood van een rat heeft geleid en de techniek veel omslachtiger is dan een injectie met fysiologisch zout is deze methode de laatste twee jaar van het onderzoek routine geworden. Bij negatieve bevinding wordt alsnog een injectie met 'patent blue violet' toegediend. Voordat het infuus na zeven dagen wordt afgekoppeld vindt wederom controle van de doorgankelijkheid met inspuiting van een fysiologische zoutoplossing plaats.

De volgende storingen kunnen tijdens de infusieduur optreden:

1) de catheter vult zich retrograad met bloed.

Oorzaak en remedie: tussen pomp en proefdier treedt drukverlies in het infusiesysteem op waardoor de arteriële druk de pompdruk overwint. Nagegaan moet worden of de pomp inderdaad loopt en of er lekkage in het traject voorkomt. Denk aan lekkage van de piston van de injectiespuit. Reparatie naar bevinding.

2) het infusiesysteem is volledig verstopt.

Oorzaak en remedie: dit treedt op bij stolling in de catheter. Het kan het gevolg zijn van vaatwandbeschadiging met trombose in het cathetertipgebied, stilstand van de infusiepomp of lekkage in het aanvoerende systeem (zie onder 1). Bij langdurig bestaan (1 uur of langer) van deze situatie is doorspuiten met een fysiologische zoutoplossing onmogelijk. Let op: de pomp dreigt reeds bij dichtzitten van één infusiesysteem bij oplopen van de weerstand tot stilstand te komen waardoor secundair ook de andere infusiesystemen verstopt raken. Het is essentieel het verstopte infuus los te koppelen om zodoende de andere te sparen.

3) bij doorspuiten van het infusiesysteem met een fysiologische

zoutoplossing schudt de rat de kop niet en krabt evenmin aan het linker oor.

Oorzaak en remedie: de catheter is verstopt of uit het vat geschoten of er is trombose van het efferente deel van de arteria carotis externa ontstaan. Dit moet eerst met 'patent blue violet' gecontroleerd worden. Kleurt de regionaal 'doorstroomde' tumor niet dan moet het dier afgekoppeld worden.

4) de rat heeft de halsband losgetrokken maar het infuus zit nog goed.

Remedie: controle van het infusiesysteem door middel van 'patent blue violet' injectie. Getracht moet worden na een lichte intramusculaire Hypnorm-injectie (0,05 ml per 100 gram lichaamsgewicht) de fixatie te herstellen.

Het is van essentieel belang gebleken de infusieopstelling dagelijks intensief te controleren. Met behulp van bovengenoemde richtlijnen is het mogelijk met het model een goede produktiviteit te verkrijgen. In het eerste jaar van het experiment werd slechts in minder dan 25% van de gevallen een volledige infusiebehandeling afgemaakt. In de latere series schommelt de score tussen de 50 en 75%.

RESULTATEN

IV.1. Selectie criteria.

Voordat de ratten voor de infusiebehandeling in aanmerking kwamen dienden de tumoren een 'volume' van meer dan 100 mm^3 te hebben. Tevens zijn alleen gezonde dieren geselecteerd waarbij gelet werd op de ademhaling, eventuele gewichtsvermindering en het aspect van de vacht.

Bij 424 ratten voorzien van een in beide oren geïmplantéerd plaveiselcelcarcinoom is catheterisatie van de arteria maxillaris externa uitgevoerd. Bij het bewerken van de resultaten is van de uitkomsten van 262 infusiebehandelingen gebruik gemaakt. Bij het selecteren van het cijfermateriaal zijn de volgende criteria gehanteerd:

- 1) Het proefdier moet 7 maal 24 uur behandeld zijn.
- 2) Het infuussysteem moet gedurende de gehele behandeling doorgankelijk geweest zijn
- 3) De toegediende dosis van het cytostaticum moet nauwkeurig bekend zijn.
- 4) De tumoren dienen bij de metingen onbeschadigd en dus niet door bloeding of ulceratie gedeformeerd te zijn.

Het elimineren van geulcereerde tumoren vond vaker plaats aan de systemisch dan aan de regionaal behandelde kant. Aangezien het optreden van ulceratie veel frequenter voorkwam bij tumoren met een groter beginvolume lijkt dit verschijnsel gecorreleerd te zijn aan de grootte van de tumor.

Dit houdt in dat de verschillen van behandelingseffect van regionale infusie en systemische toediening door de eliminatie van geulcereerde tumoren zeker niet overschat zijn.

- 5) De tumormetingen zijn direct aan begin- en eindpunt van de infusie uitgevoerd.
- 6) De begin- en eindmetingen van het tumorvolume bij één dier dienen door dezelfde persoon verricht te zijn.

IV.2. Toxiciteit.

IV.2.a Lokaal.

Bij geen der proefdieren is een duidelijk lokale toxiciteit door cytostaticumtoediening - zoals ulceratie en erytheem van het mond-slijmvlies - geconstateerd.

IV.2.b Algemeen.

Algemene malaise, haaruitval, diarree en gewichtsverlies traden op bij hoge doseringen van BLM, 5-FU en MTX. De haaruitval bleek bij 5-FU en BLM-toediening meer uitgesproken dan bij MTX. Als maatstaven voor de algemene toxiciteit werden mortaliteit en gewichtsvermindering genoteerd. Sterfte trad vrijwel altijd op in de periode direct na beëindiging van de infusie en slechts zelden tijdens de behandeling. Als dit laatste het geval was betrof het altijd de toediening van zeer hoge doseringen. Sterfte later dan 7 dagen na beëindiging van de infusie kwam vrijwel niet voor. Gebleken is verder dat een gewichtsverlies van ongeveer 25% in 7 dagen meestal werd gevolgd door de dood van het proefdier.

IV.3. Indeling behandelingsschema's.

Bij het uitvoeren van het experiment is onderscheid gemaakt tussen:

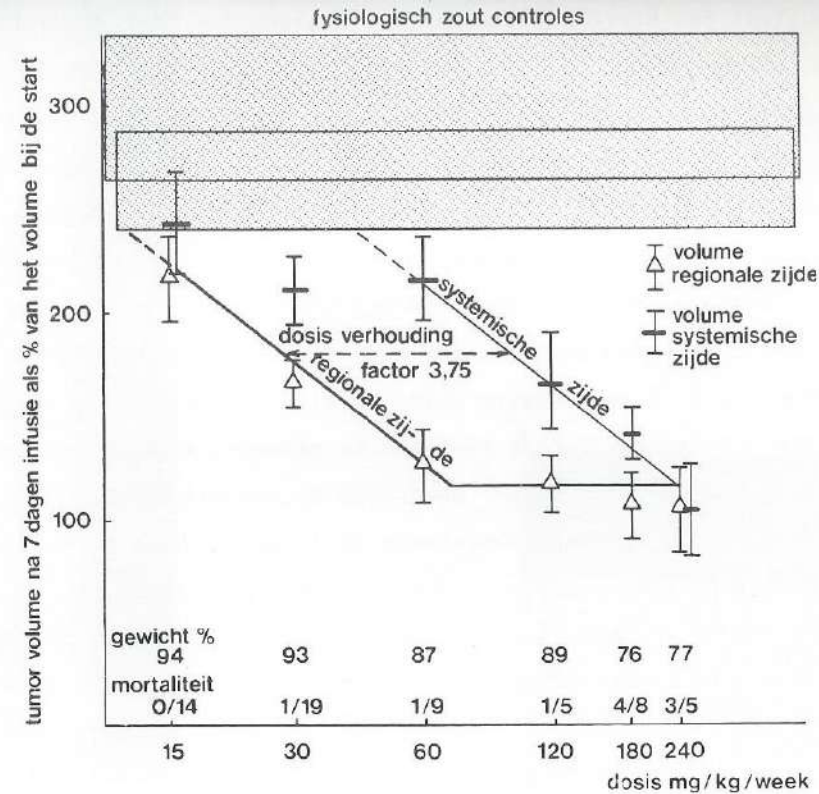
1. continue infusie van één cytostaticum (IV.4.)
2. continue infusie van een combinatie van cytostatica (IV.5.a)
3. sequentiële toediening van verschillende cytostatica (IV.5.b)
4. sequentiële intermitterende toediening van verschillende cytostatica afgewisseld door infusie van een fysiologische zoutoplossing (IV.5.c)
5. andere schema's (IV.5.d).

IV.4. Resultaten van enkelvoudig toegediende cytostatica gedurende 7 dagen.

IV.4.a Continue I.A. infusie van bleomycine (BLM).

Aanvankelijk is getracht met een I.M.-injectie BLM op dag 1 en dag 2 in oplopende dosering de dosis vast te stellen waarbij 50% van de ratten sterft. Deze gebruikelijke methode heeft echter betrekkelijk weinig waarde voor het verdere onderzoek, omdat daarbij het cytostaticum continu I.A. gedurende 7 dagen wordt toegediend. Daarom is overgegaan op het uitvoeren van oriënterende I.A. infusieseries met doses welke met faktor 2 oplopen teneinde de dosis-mortaliteitsrelatie vast te kunnen stellen. Naast de doses 15, 30, 60, 120 en 240 mg/kg/week, is ook voor 180 mg/kg/week de lethaliteit vastgesteld, om zo nauwkeurig mogelijk een indruk over de toename van de toxiciteit bij verhogen van de dosis te verkrijgen. Bij het uitvoeren van de infusie-behandeling wordt BLM in een fysiologische zoutoplossing met 10 E heparine per ml. in 20 ml. injectiespuiten opgezogen. De hoeveelheden zijn met een pipet afgemeten, zodat geen gebruik wordt gemaakt van de grove calibrering van de grote injectiespuiten.

Afbeelding 31 toont de regressielijnen van de regionaal en systemisch behandelde tumoren. Deze lijnen geven de relatie weer tussen tumor-



afb.31.

7 dagen continue intra-arteriële infusie van bleomycine. Toxiciteit, mortaliteit en effect op de tumor (met standaard fout). De resultaten (met standaard fout) van de controle infusies worden weergegeven door de twee grijze horizontale banden in de grafiek. De grootste geeft de systemisch behandelde controletumoren weer en de kleinste de regionaal geïnfundeerde controletumoren.

volume en logdosis en zijn bepaald met behulp van een computer met de methode van de kleinste kwadraten. Omdat bij de regionale toediening reeds snel een plateaufase van het effect van BLM wordt bereikt, wordt bij het construeren van de regressielijn van een beperkt aantal doses gebruik gemaakt (15, 30, 60 mg/kg/week). Aan de regionale zijde wordt reeds voor lage doseringen met geringe

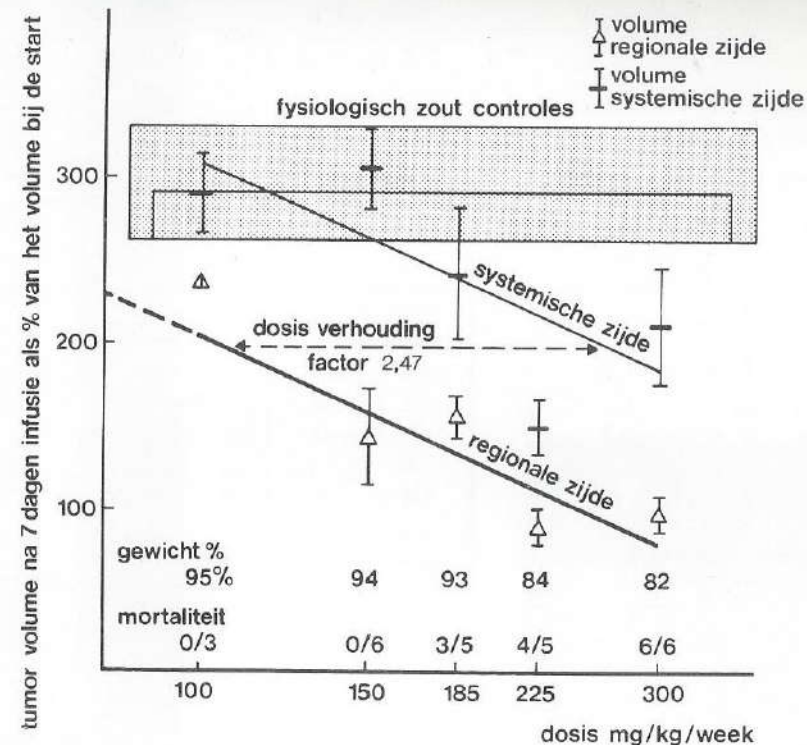
toxiciteit een sterk antitumoreffect waargenomen. Aan de systemische zijde worden alleen antitumor effecten bij veel hogere doses geregistreerd. Aangezien de doses op een logaritmische schaal zijn uitgezet, komt de horizontale afstand tussen de beide regressielijnen overeen met de verhouding van de doses, welke langs beide verschillende wegen van toediening eenzelfde effect veroorzaken. Deze verhouding bedraagt voor BLM ongeveer een factor 3,75, m.a.w. eenzelfde antitumor effect wordt bij de systemisch behandelde tumor pas bij een 3,75 maal hogere dosis bereikt dan bij de regionaal doorstroomde tumor. Dat de systemische concentratie van het cytostaticum hiervoor veel hoger moet zijn blijkt uit de zeer sterke stijging van de algemene toxiciteit en de mortaliteit welke met een dosisverhoging van een factor 3,75 gepaard gaan. In dezelfde grafiek zijn tevens de mortaliteit en het lichaamsgewicht van de ratten na beëindiging van de behandeling, uitgedrukt in een percentage van het gewicht bij de aanvang van de infusie, weergegeven (zie ook tabel II).

Als controle zijn infusies met een fysiologische zoutoplossing/heparine 10 E/ml uitgevoerd. Hierbij is geen significant verschil in tumorgroei aan beide zijden geconstateerd. De gemiddelde tumorgroei bij de controledieren na één week infusie is regionaal $299\% \pm SE 35,6$ en systemisch $265 \pm SE 23,9$ (N=15) van het oorspronkelijke volume bij het begin van de infusie. Dit komt overeen met een tumorvolume verdubbelingstijd van ongeveer 4,5 - 5,0 dagen, hetgeen iets korter is dan de waarde van 7,5 dagen met een spreiding van ± 2 dagen welke Barendsen (1977) vermeldt.

Uit deze gegevens komt duidelijk naar voren dat intra-arteriële toediening van BLM superieur is aan systemische toediening ervan.

IV.4.b Continue I.A. infusie van 5-fluorouracil (5-FU).

Bij het vaststellen van de dosis-mortaliteitsrelatie voor 5-FU is



afb.32.

7 dagen continue intra-arteriële infusie van 5-fluorouracil. Toxiciteit, mortaliteit en effect op de tumor (met standaard fout). De resultaten (met standaard fout) van de controle infusies worden weergegeven door de twee grijze horizontale banden in de grafiek. De grootste geeft de systemisch behandelde controletumoren weer en de kleinste de regionaal geïnfecteerd controletumoren.

gebruik gemaakt van oriënterende continue I.A. infusies, waarna de volgende doses in het experiment verder zijn onderzocht: 100, 150, 185, 225 en 300 mg/kg/week.

Afbeelding 32 toont de regressielijnen welke de relatie tussen tumorvolume en logdoses van het cytostaticum weergeven. Alle toegediende doses vertonen een effect op de regionaal behandelde tumor (tabel III). Pas bij een dosis van 185 mg/kg/week wordt aan de

TABEL II

7 DAGEN CONTINUE INTRA-ARTERIELE INFUSIE VAN BLM.
EFFECT OP TUMORVOLUME EN LICHAAMSGEWICHT MET STANDAARDFOUT.

Dosis BLM mg/kg/wk	Gewicht ná infusie als % van gewicht vóór infusie	Gemiddeld tumorvolume ná infusie als % van het volume vóór infusie		Mortaliteit
		Regionaal:	Systemisch:	
15	94,2 ± 1	218 ± 21	244,8 ± 25,5	0/14
30	93 ± 3,4	165,9 ± 10,8	211,8 ± 17,5	1/19
60	87,7 ± 2,8	127,6 ± 18	216,3 ± 19,2	1/9
120	81,4 ± 1,8	117 ± 13,9	165 ± 24,1	1/5
180	76,4 ± 1,8	108,5 ± 16	141 ± 13,3	4/8
240	77,2 ± 4,2	105 ± 21,4	104 ± 22,2	3/5
controles (NaCl 0,9%)	99,7 ± 6,9	299 ± 35,6	264,8 ± 23,9	0/15

TABEL III

7 DAGEN CONTINUE INTRA-ARTERIELE INFUSIE VAN 5-FU.
EFFECT OP TUMORVOLUME EN LICHAAMSGEWICHT MET STANDAARDFOUT.

Dosis 5-FU mg/kg/wk	Gewicht ná infusie als % van gewicht vóór infusie	Gemiddeld tumorvolume ná infusie als % van het volume vóór infusie		Mortaliteit
		Regionaal:	Systemisch:	
100	94,7 ± 2,4	237 ± 3	290 ± 23,3	0/3
150	94,5 ± 1,3	143,7 ± 29,1	305,2 ± 25,3	0/6
185	93,2 ± 1,5	156 ± 12,9	241,8 ± 39,5	3/5
225	84,5 ± 5	89,5 ± 11,3	149,8 ± 17	4/5
300	82,5 ± 3,1	98,3 ± 10	210,8 ± 34,7	6/6
controles (NaCl 0,9%)	98,6 ± 1,52	277 ± 13,9	297,9 ± 35,7	0/12

systemische zijde een zwak antitumor effect waargenomen. De doses welke bij regionale en systemische toediening eenzelfde effect teweegbrengen, verhouden zich als een faktor 2,47 in het voordeel van de regionale toediening. Hierbij valt op dat de toxiciteit zeer sterk toeneemt met het verhogen van de dosis noodzakelijk voor het verkrijgen van een goed effect aan de systemische zijde. Er wordt bijvoorbeeld bij een mortaliteit van 0/6 aan de regionale zijde meer effect op de tumor verkregen dan bij een systemische toediening waarbij de mortaliteit 6/6 bedraagt. Bij infusie van een fysiologische zoutoplossing met heparine 10 E/ml is de tumorgroei na 7 dagen aan de regionale zijde $277\% \pm \text{SE } 13,9$ en $298\% \pm \text{SE } 35,7$ ($N=12$) van het oorspronkelijke volume bij het begin van de infusie. Uit bovenstaande gegevens blijkt dat intra-arteriële infusie van 5-FU superieur is aan systemische toediening ervan.

IV.4.c Continue I.A. infusie van methotrexaat (MTX)

Hoewel uit eerder onderzoek (Sindram e.a., 1973) is gebleken dat intra-arteriële toediening van MTX een faktor 2 superieur is aan systemische toediening ervan, werd het toch van belang geacht om een kleine serie intra-arteriële infusies met MTX uit te voeren omdat in het huidige model een andere tumor en techniek worden toegepast. In tabel IV zijn de resultaten van 7 dagen continue intra-arteriële infusie van MTX met doses van 0,5, 1,0 en 1,4 mg/kg/week weergegeven. Hieruit blijkt dat continu toegediend MTX in dit model slechts een gering effect op de tumor vertoont waarbij intra-arteriële toediening niet superieur is aan systemische. Statistische analyse door middel van de computer van de mogelijke relatie tussen tumorvolume en dosis van het cytostaticum enerzijds en gewichtsverlies van het proefdier als uitdrukking van de algemene toxiciteit anderzijds toont aan dat het volume van de tumor aan de syste-

TABEL IV

7 DAGEN CONTINUE INTRA-ARTERIELE INFUSIE VAN MTX. EFFECT OP TUMORVOLUME EN LICHAAMSGEWICHT MET STANDAARDFOUT.

Dosis MTX mg/kg/wk	Gewicht ná infusie als % van gewicht vóór infusie	Gemiddeld tumorvolume ná infusie als % van het volume vóór infusie		Mortaliteit
		Regionaal:	Systemisch:	
0,5	96,4 ± 2,6	224,8 ± 34,2	255,2 ± 64,0	1/5
1,0	92,3 ± 2,1	213,3 ± 23,4	279,4 ± 45,7	3/7
1,4	77,3 ± 1,1	174,8 ± 16,6	165,1 ± 11,2	14/16
controles (NaCl 0,9%)	97,2 ± 1,10	266,4 ± 26,9	313,9 ± 47,1	0/11

mische zijde een hogere correlatie (correlatiecoëfficiënt + 0,798) heeft met de afname van het lichaamsgewicht en dus met de algemene toxiciteit dan met de dosis van het toegediende cytostaticum (correlatiecoëfficiënt - 0,404). Dit suggereert dat het tumorvolume slechts indirect gerelateerd is aan de behandeling met het cytostaticum. Het geringe effect op de I.A. behandelde tumor moet dan ook mede op basis van de door Sindram (1973) verstrekte gegevens worden beschouwd als een aanwijzing voor de ongevoeligheid van de in dit experiment gebruikte tumor voor continu toegediende methotrexaat. De uitkomsten van het diermodel laten slechts duidelijke conclusies toe wanneer er sprake is van vrij grove verschillen, m.a.w. wanneer een reeks metingen belangrijk afwijkt van een daarmee te vergelijken andere reeks. Het is daarom niet onmogelijk dat MTX toch een geringe werking op de gebruikte tumor heeft. Aangezien zowel uit de kliniek (hoofdstuk I) als uit dicrexperimentele gegevens (Sindram, 1973) bekend is dat intermitterende toediening

waarschijnlijk beter is dan continue, bestaat de mogelijkheid dat intermitterend toegediende MTX in dit experiment ook een duidelijk effect op de tumor zal hebben. Aangezien aanvankelijk van de veronderstelling werd uitgegaan dat MTX op het gebruikte plaveiselcelcarcinoom werkzaam is en dat de conclusies van Sindram ten aanzien van de I.A. toediening van kracht zijn, is MTX als laatste cytostaticum in het onderzoek toegepast. Na het uitblijven van effect op de tumorgroei bij continue toediening van MTX bleek het, gezien het gebrek aan beschikbare tijd, niet meer mogelijk MTX op voldoende ruime schaal intermitterend toe te dienen. De resultaten van een vrij kleine oriënterende serie intermitterende toediening van MTX tonen geen duidelijk effect op de tumor.

IV.5. Toediening van een combinatie van cytostatica gedurende 7 dagen.

IV.5.a I.A. Combinatiebehandeling van BLM, MTX en 5-FU.

Een combinatie van BLM 30 mg/kg, MTX 1 mg/kg en 5-FU 150 mg/kg is gedurende een week continu toegediend. Aan het infusaat is 10 E/ml heparine toegevoegd. In tabel V zijn de resultaten weergegeven.

TABEL V

7 DAGEN CONTINUE INTRA-ARTERIELE INFUSIE VAN EEN COMBINATIE VAN BLM, MTX en 5-FU EFFECT OP TUMORVOLUME EN LICHAAMSGEWICHT MET STANDAARDFOUT.

Doses BLM 30 mg/kg/wk MTX 1 mg/kg/wk 5-FU 150 mg/kg/wk	Gewicht ná infusie als % van gewicht vóór infusie	Gemiddeld tumorvolume ná infusie als % van het volume vóór infusie		Mortaliteit
		Regionaal:	Systemisch:	
	84,5 ± 2	148,3 ± 7,2	152,8 ± 8,1	5/13
controles (NaCl 0,9%)	95,2 ± 4,3	248 ± 26,8	248,3 ± 24,4	0/9

Het regionaal effect van dit behandelingsschema is minder goed dan van BLM alleen, vergeleken bij dezelfde algemene toxiciteit. De toxiciteit van dit schema is aanzienlijk. Het lijkt niet waarschijnlijk dat de op deze wijze toegediende cytostatica elkaar potentiëren. Er wordt geen verschil tussen de regionaal en systemisch behandelde tumoren waargenomen.

IV.5.b I.A. Sequentiële behandeling van BLM, MTX en 5-FU.

BLM 30 mg/kg, MTX 1 mg/kg en 5-FU 150 mg/kg zijn na elkaar toegediend. Aan het infusaat is 10 E/ml heparine toegevoegd. Ieder cytostaticum is gedurende precies 56 uur ingelopen (1/3 week). De doses zijn gelijk gehouden aan die van de combinatiebehandeling (IV 5.a) om effect en toxiciteit te kunnen vergelijken. De resultaten zijn in tabel VI weergegeven. Het effect op de regionaal en systemisch behandelde tumoren verschilt weinig van de gelijktijdige toediening. De toxiciteit is verder toegenomen. Het effect op de regionaal behandelde tumor lijkt beter dan aan de systemische zijde.

TABEL VI

7 DAGEN SEQUENTIELE INTRA-ARTERIELE INFUSIE VAN BLM, MTX EN 5-FU.
EFFECT OP TUMORVOLUME EN LICHAAMSGEWICHT MET STANDAARDFOUT.

Doses	Gewicht na infusie als % van gewicht vóór infusie	Gemiddeld tumorvolume na infusie als % van het tumorvolume vóór infusie		Mortaliteit
BLM 30 mg/kg				
MTX 1 mg/kg				
5-FU 150 mg/kg		Regionaal:	Systemisch:	
	80 ± 2,2	122,4 ± 11,4	158 ± 9,6	7/11
controles (NaCl 0,9%)	100	305	229	0/1

IV.5.c I.A. sequentiële intermitterende behandeling van BLM, MTX en 5-FU.

De toename van de toxiciteit heeft geleid tot schema's waarbij de cytostatica in kortere tijd zijn toegediend en afgewisseld worden met infusies van fysiologische zoutoplossing. Ieder cytostaticum wordt gedurende 24 uur toegediend waarna een 24-uurs infuus fysiologische zoutoplossing met 10 E/ml heparine volgt. Gedurende de laatste 48 uur van het infuus wordt uitsluitend de fysiologische zout/heparine-oplossing toegediend. De feitelijke behandelingscyclus bedraagt dus 5 dagen. De toegediende doses zijn wederom BLM 30 mg/kg, MTX 1 mg/kg en 5-FU 150 mg/kg. Drie groepen proefdieren zijn volgens dit sequentieel intermitterende schema behandeld waarbij groep I de hierboven genoemde dosering kreeg en groep II en III respectievelijk de helft en een derde deel daarvan (tabel VII).

TABEL VII

3 DOSERINGSSCHEMA'S VAN SEQUENTIELE INTERMITTERENDE INTRA-ARTERIELE INFUSIE VAN BLM, MTX EN 5-FU.

	1e dag BLM mg/kg	2e dag NaCl 0,9%	3e dag MTX mg/kg	4e dag NaCl 0,9%	5e dag 5-FU mg/kg	6e en 7e dag NaCl 0,9%
Schema I	30 mg/kg	"	1 mg/kg	"	150 mg/kg	"
Schema II	15 mg/kg	"	0,5 mg/kg	"	75 mg/kg	"
Schema III	10 mg/kg	"	0,33 mg/kg	"	50 mg/kg	"

In tabel VIII zijn de resultaten van dit behandelingsschema weergegeven. De dieren in groep I vertonen een hoger gemiddeld gewichtsverlies dan de dieren die dezelfde totaaldoses ontvingen volgens het voorgaande combinatie- of sequentieschema (IV.5.a en IV.5.b). De sterfte is daarmee in overeenstemming, alle acht behandelde dieren

stierven tegen respectievelijk 5 van de 13 in de combinatiegroep en 7 van de 11 in de sequentiegroep. Er is echter wel een krachtig effect op de tumorgroei. Bij halvering van de doses - in groep II - vermindert het gewichtsverlies met afname van de mortaliteit (3 van de 7 dieren stierven).

TABEL VIII

7 DAGEN SEQUENTIELE INTERMITTERENDE INTRA-ARTERIELE INFUSIE VAN BLM, MTX EN 5-FU VOLGENS 3 VERSCHILLENDE DOSERINGSSCHEMA'S. EFFECT OP TUMORVOLUME EN LICHAAMSGEWICHT MET STANDAARDFOUT (zie ook tabel VII).

Doses (zie tabel VII)	Gewicht ná infusie als % van gewicht vóór infusie	Gemiddeld tumorvolume ná infusie als % van het volume vóór infusie		Mortaliteit
		Regionaal:	Systemisch:	
Schema I	77,1 ± 2,7	93,5 ± 11,9	112,9 ± 12,2	8/8
Schema II	83,4 ± 3	120,7 ± 11,1	158,4 ± 4,9	3/7
Schema III	92,1 ± 1,5	102,8 ± 6,6	172,4 ± 12,3	0/10
Controles (NaCl 0,9%)	96,6 ± 3,3	252,4 ± 33,1	335,8 ± 21,1	0/5

Het effect op de tumorgroei lijkt iets minder krachtig met een geringe superioriteit van het effect aan de regionaal doorstroomde zijde. In groep III zijn de doses tot een derde verlaagd. Er wordt dan geen mortaliteit waargenomen. Ook het gewichtsverlies is slechts zeer beperkt (gemiddeld tot 92,1% van de uitgangswaarde). De regionaal behandelde tumoren vertonen krachtige groeiremming. De systemische behandelde tumor wordt daarbij aanzienlijk minder in groei geremd. De dieren in groep III hebben ook tijdens de 'follow-up' minder last van algemene malaise, haaruitval en diarree dan de dieren welke bij een vergelijkbare toxiciteit met een enkelvoudig schema zijn behandeld. Verder is het opvallend dat de tumoren pas veel later in de observatieperiode gaan ulcereren. De waarde van dit

sequentieel intermitterende schema wordt uitvoerig in hoofdstuk V besproken.

IV.5.d Enkele ervaringen met andere intra-arterieel toegediende schema's.

Op beperkte schaal is oriënterend onderzoek gedaan naar de volgende behandelingsschema's:

1. combinatie- en sequentiële behandeling van BLM en MTX
2. sequentiële behandeling van BLM, MTX en 5-FU met toediening binnen 15 minuten.
3. sequentieel intermitterende toediening van een hoge dosis BLM gevolgd door lage doses MTX en 5-FU.
4. intermitterende toediening van BLM.

Aangezien het steeds betrekkelijk kleine aantallen proefdieren betreft kunnen op statistische gronden geen conclusies worden getrokken. De uitkomsten vormen slechts een aanwijzing waarop een nader uit te werken experiment kan worden gebaseerd.

IV.5.d.1 Combinatie en sequentiële toediening van BLM en MTX gedurende een week.

I.A. toediening van een combinatie van BLM en MTX.

Bij het vaststellen van de doses BLM en MTX is uitgegaan van de LD50 van BLM, 180 mg/kg/week. Een deel van de BLM is hierin naar rato vervangen door een deel van de LD50 (volgens Sindram) van MTX en wel als volgt: 4/7 van de BLM dosis (104 mg/kg/week) en 3/7 van de MTX dosis (0,6 mg/kg/week) zijn in combinatie aan 4 dieren toegediend. Het resultaat is in tabel IX weergegeven.

TABEL IX

7 DAGEN CONTINUE INTRA-ARTERIELE INFUSIE VAN EEN COMBINATIE VAN BLM en MTX.

Doses BLM 104 mg/kg/wk MTX 0,6 mg/kg/wk	Gewicht ná infusie als % van gewicht vóór infusie	Gemiddeld tumorvolume ná infusie als % van het volume vóór infusie		Mortaliteit
		Regionaal:	Systemisch:	
	86	120	118	1/4

I.A. sequentiële cyclische toediening van 26 mg/kg/dag BLM op dag 1,3,5 en 7 en 0,2 mg/kg/dag MTX op dag 2,4,6 - met dus dezelfde totaaldoses als het voorgaande combinatieschema - geeft in tabel X de volgende resultaten te zien:

TABEL X

7 DAGEN SEQUENTIELE CYCLISCHE INTRA-ARTERIELE INFUSIE VAN BLM OP DAG 1,3,5 EN 7 EN MTX OP DAG 2,4 EN 6 MET DEZELFDE TOTAALDOSES ALS HET COMBINATIESCHEMA IN TABEL IX.

Doses BLM 26 mg/kg/dag MTX 0,2 mg/kg/dag (TOTAAL: BLM 104 mg/kg/wk en MTX 0,6 mg/kg/wk)	Gewicht ná infusie als % van gewicht vóór infusie	Gemiddeld tumorvolume ná infusie als % van het volume vóór infusie		Mortaliteit
		Regionaal:	Systemisch:	
	75	99	117	0/4

IV.5.d.2 Sequentiële behandeling van BLM, MTX en 5-FU met toediening binnen 15 minuten.

Toegediend worden BLM op dag 1 (180 mg/kg), MTX op dag 3 (0,2 mg/kg) en 5-FU op dag 5 (26 mg/kg).

De resultaten na 7 dagen zijn in tabel XI weergegeven:

TABEL XI

SEQUENTIELE INTRA-ARTERIELE INJECTIES VAN BLM, MTX EN 5-FU OP RESPECTIEVELIJK DAG 1,3 EN 5 BINNEN 15 MINUTEN TOEGEDIEND. RESULTATEN NA 7 DAGEN.

Doses BLM 180 mg/kg/dag MTX 0,2 mg/kg/dag 5-FU 26 mg/kg/dag	Gewicht ná 7 dagen als % van gewicht vóór injecties	Gemiddeld tumorvolume ná 7 dagen als % van het volume vóór injecties		Mortaliteit
		Regionaal:	Systemisch:	
	82,5	87	129	0/4

Een zelfde schema met andere doses, nl. BLM 15 mg/kg, MTX 0,5 mg/kg, 5-FU 75 mg/kg geeft in tabel XII de volgende resultaten te zien:

TABEL XII

SEQUENTIELE INTRA-ARTERIELE INJECTIES VAN BLM, MTX EN 5-FU OP RESPECTIEVELIJK DAG 1,2 EN 5 BINNEN 15 MINUTEN TOEGEDIEND. RESULTATEN NA 7 DAGEN.

Doses BLM 15 mg/kg/dag MTX 0,5 mg/kg/dag 5-FU 75 mg/kg/dag	Gewicht ná 7 dagen als % van gewicht vóór injecties	Gemiddeld tumorvolume ná 7 dagen als % van het volume vóór injecties		Mortaliteit
		Regionaal:	Systemisch:	
	81	159	214	0/5

IV.5.d.3 Sequentieel intermitterende toediening van een hoge dosis BLM gevolgd door lage doses MTX en 5-FU.

Ieder cytostaticum wordt gedurende 24 uur toegediend en wel als volgt: BLM op dag 1 (180 mg/kg), MTX op dag 3 (0,2 mg/kg) en 5-FU op dag 5 (26 mg/kg). De resultaten na 7 dagen zijn weergegeven in tabel XIII.

TABEL XIII

SEQUENTIELE INTERMITTERENDE INTRA-ARTERIELE INFUSIE VAN BLM, MTX EN 5-FU
GEDURENDE 24 UUR PER CYTOSTATICUM OP RESPECTIEVELIJK DAG 1,3 EN 5.
RESULTATEN NA 7 DAGEN.

Doses BLM 180 mg/kg/dag MTX 0,2 mg/kg/dag 5-FU 26 mg/kg/dag	Gewicht na 7 dagen als % van gewicht vóór infusie	Gemiddeld tumorvolume ná 7 dagen als % van het volume vóór infusie		Mortaliteit
		Regionaal:	Systemisch:	
		84,5	72,5	
	71,5			4/4

IV.5.d.4 Intermitterende toediening van BLM.

BLM 10 mg/kg/dag wordt gedurende 24 uur op dag 1,3 en 5 toegediend.
De resultaten na 7 dagen zijn in tabel XIV weergegeven.

TABEL XIV

INTERMITTERENDE INTRA-ARTERIELE 24-UURS TOEDIENING VAN BLM OP DAG 1,3 EN 5.
RESULTATEN NA 7 DAGEN.

Dosis BLM 10 mg/kg/dag (Totaal: 30 mg/kg)	Gewicht na 7 dagen als % van gewicht vóór infusie	Gemiddeld tumorvolume ná 7 dagen als % van het volume vóór infusie		Mortaliteit
		Regionaal:	Systemisch:	
		140	183	
	88			2*/12

* 1 dier gestorven door bloedverlies bij afkoppelen van het infusiesysteem.

De volgende indrukken zijn met bovenstaande oriënterende proeven
opgedaan:

1. De I.A. sequentiële cyclische toediening van BLM en MTX lijkt

minstens zo goed, zo niet beter dan de continue toediening van
de combinatie van deze stoffen. Het lijkt veel beter dan de
continue toediening van BLM alleen vergeleken bij dezelfde mor-
taliteit. Dit schema verdient een nader onderzoek.

2. 24-uurs I.A. toediening per cytostaticum van BLM, MTX en 5-FU
lijkt toxischer dan de snelle toediening binnen 15 minuten van
deze stoffen, hoewel het effect op de tumor ongeveer gelijk
blijft. Het schema waarbij de cytostatica binnen 15 minuten
worden toegediend vertoont een opvallend geringe toxiciteit met
een effect dat superieur lijkt aan de toediening van BLM alleen.
De kortdurende toediening lijkt een nader experiment te recht-
vaardigen.
3. De indruk bestaat dat I.A. intermitterende toediening van BLM op
dag 1,3,5 minstens zo goed, zo niet beter is, dan de continue
toediening van dezelfde totaaldosis BLM (zie IV.4.a).

BESCHOUWING EN CONCLUSIES

De in I.7. geformuleerde vraagstellingen zullen aan de hand van de gegevens welke in de hoofdstukken III en IV zijn vermeld, in volgorde worden beantwoord.

De eerste vraagstelling luidde: 'Is het mogelijk een diermodel te ontwikkelen waarbij een tumor in het hoofd-halsgebied langs intra-arteriële weg in analogie met de klinische behandeling via retrograde canulatie van een zijtak van de arteria carotis externa met cytostatica doorstroomd wordt?'

Met het in dit proefschrift beschreven diermodel is het mogelijk gebleken om - analoog aan de in de kliniek toegepaste intra-arteriële chemotherapie - experimentele tumoren in het hoofd-halsgebied te behandelen. Deze nieuw ontwikkelde I.A. canulatietechniek verandert niets aan de bloedstroom in de arteria carotis communis. Het is derhalve zeer onwaarschijnlijk dat circulatieveranderingen van meetbare omvang in het tumorgebied optreden. Dit in tegenstelling tot de eerder toegepaste occlusieve canulatie van de arteria carotis communis, waarbij bewezen veranderingen in de bloedstroom naar de tumor optreden. De occlusieve canulatie is tevens te weinig in overeenstemming met de in de kliniek toegepaste infusietechniek.

De toepassing van het operatiemicroscop heeft de ontwikkeling van retrograde canulatie van een zijtak van de arteria carotis externa mogelijk gemaakt. Dit bloedvat, de arteria maxillaris externa, is zeer dun en het is zeker onwaarschijnlijk dat canulatie invloed zou hebben op de bloedstroom van de arteria carotis externa. De

techniek is volledig in overeenstemming met de klinische catheterisatiemethode, zoals van de arteria temporalis superficialis. Controle-inspuiting met blauwkleurstof ('patent blue violet') heeft veelvuldig aangetoond dat het regionaal behandelde tumorgebied in belangrijke mate selectief wordt doorstroomd. Met de ontwikkeling van het in dit proefschrift beschreven diermodel en gezien de gunstige ervaring die ermee is opgedaan, wordt de eerste vraagstelling als positief beantwoord beschouwd.

De tweede vraagstelling luidde: 'Is intra-arteriële infusie van in de kliniek veelvuldig toegepaste cytostatica in dit model superieur aan de systemische toediening daarvan?'

Het geschetste diermodel is uitstekend geschikt voor het onderzoeken van de optimale weg van toediening van cytostatica. In één dier wordt steeds het effect op de regionaal en systemisch behandelde tumor vergeleken. Aangezien hierbij geen absolute uitspraak behoeft te worden gedaan over het effect van een cytostaticum op de tumor kunnen de specifieke eigenschappen van de te behandelen tumor buiten beschouwing worden gelaten.

Van de drie cytostatica welke bij de behandeling van tumoren in het hoofd-halsgebied veelvuldig worden toegepast, blijken BLM en 5-FU in dit diermodel een duidelijk effect op de tumorgroei te hebben, en wel zodanig dat met de I.A. infusie een sterker effect op de regionaal doorstroomde tumor dan op de systemische wordt verkregen. Eenzelfde effect kan slechts bij de systemisch doorstroomde tumor worden bereikt door de doses resp. met een factor 3,8 en 2,5 te verhogen, hetgeen een zeer sterke stijging van toxiciteit en mortaliteit tot gevolg heeft.

Methotrexaat bleek, althans wanneer het continu werd toegediend, niet werkzaam op het in de experimenten gebruikte plaveiselcel-

carcinoom. Het antwoord op de tweede vraagstelling luidt dus dat in dit model de continue I.A. infusie van BLM en 5-FU - twee cytostatica waarvoor de tumor gevoelig is gebleken - belangrijk meer antitumor effect oplevert dan de systemische toediening van dezelfde stoffen. Uit het experimentele werk van Sindram is gebleken dat het door hem behandelde rhabdomyosarcoom

wel gevoelig is voor MTX en dat de I.A.-toediening in zijn model superieur is aan de systemische. De uitkomsten van zijn onderzoek sluiten aan bij de in dit proefschrift beschreven resultaten voor BLM en 5-FU. Waarschijnlijk hebben de eerder gevonden veranderingen (II.3.b.1) in de bloedstroom geen grote invloed gehad op de uiteindelijke uitkomst van het onderzoek van Sindram. Het is daarom niet uitgesloten dat bij een daarvoor gevoelige tumor I.A. toegediend MTX superieur is aan de systemische behandeling.

De derde vraagstelling luidde: 'Is in dit model de intra-arteriële toediening van een combinatie van cytostatica superieur aan de systemische combinatie van dezelfde stoffen?'

Bij het kiezen van cytostatica voor een combinatiebehandeling is in eerste instantie gedacht aan de toepassing van BLM en 5-FU, omdat de tumor heeft bewezen daarvoor gevoelig te zijn. Bij het samenstellen van een combinatieschema van cytostatica in de kliniek kan echter niet met zekerheid worden vastgesteld of de te behandelen tumor voor alle individuele componenten gevoelig is. Bovendien is het niet uitgesloten dat een niet werkzaam cytostaticum in combinatie met andere stoffen wel degelijk bijdraagt aan het uiteindelijke effect van de combinatie. Dit kan misschien verklaard worden doordat het cytostaticum de celcyclus beïnvloedt of de passage van de andere cytostatica door de tumorcelmembraan verbetert. Zo wordt bijvoorbeeld verondersteld dat een niet-werkzaam lage dosis vincristine

aan een combinatie van andere cytostatica toegevoegd, het effect ten goede kan komen, mogelijk door beïnvloeding van de celmembraanpassage. Ook kunnen de andere - wel werkzame - cytostatica het nauwelijks werkzame bestanddeel uit de combinatie 'potentiëren'. Tenslotte moet worden gerealiseerd - zoals al eerder is opgemerkt - dat in dit model de volumeafname van de tumoren slechts een relatief grove beoordeling van het effect toelaat zodat een eventuele geringe effectiviteit, zoals bij de toediening van MTX alleen, niet tot uitdrukking komt. Deze overwegingen hebben geleid tot het opnemen van MTX in verschillende combinaties met BLM en 5-FU.

Bij het combineren van deze drie cytostatica is in principe van drie verschillende schemata gebruik gemaakt: gelijktijdige combinatiebehandeling, sequentiële behandeling en sequentieel-intermitterende behandeling.

Bij de beoordeling van de resultaten wordt vastgesteld of de tumor gevoelig is voor het combinatieschema en of er verschil in tumor-groei optreedt tussen de regionaal en systemisch behandelde zijde. Bij het gelijktijdig geven van een combinatie van drie cytostatica is uitgegaan van drie doses, welke ieder op zich bij continue toediening gedurende een week juist geen sterfte veroorzaken. De MTX dosis was gebaseerd op de gegevens van Sindram en deze dosis bleek later in het eigen experiment te hoog, omdat bij 1 mg/kg MTX drie van de zeven dieren stierven.

Hoewel de combinatie een duidelijke tumorgroeiremming bewerkstelligt, heeft zij een hoge mortaliteit tot gevolg. Er is geen sprake van een sterker effect op de tumor aan de regionaal doorstroomde zijde. Het met de combinatie verkregen tumoreffect wordt zowel door BLM en 5-FU alléén, met vrij geringe mortaliteit bereikt. Dit resultaat wijst dus niet in de richting van een onderling versterken van de

cytostatische werking, terwijl de algemene toxiciteit wel toeneemt. Het toont aan dat in dit model gelijktijdige combinatie van deze cytostatica slechter is dan de continue toediening van één werkzaam cytostaticum.

Hoewel het effect op de regionaal behandelde tumor bij het sequentieel toedienen van dezelfde totaaldoses van drie cytostatica verbetert, stijgt ook de mortaliteit. In dit schema wordt ieder cytostaticum gedurende 56 uur toegediend. Het resultaat is slechter dan de continue toediening van één werkzaam cytostaticum, met name geeft BLM 60 mg/kg/week ongeveer dezelfde remming van de regionaal behandelde tumor bij een mortaliteit van slechts 1/9 tegen 7/11 van het sequentieschema. De cytostatische werking in het sequentieschema lijkt niet duidelijk versterkt te worden, terwijl de mortaliteit verder is toegenomen. Een toedieningsduur van 24 uur per cytostaticum in dit sequentieschema doet de mortaliteit niet verminderen: alle dieren stierven (8/8), maar het effect op beide tumoren lijkt iets toegenomen te zijn met geringe winst voor de regionaal behandelde tumor. Mogelijk dat een verdere verkorting van de toedieningsduur tot bijvoorbeeld 15 minuten per cytostaticum (zie IV.5.d) de toxiciteit kan terugdringen. Bij het voortzetten van het experiment is niet gekozen voor het verder verkorten van de toedieningsduur, maar voor het evenredig verlagen van de dosis van ieder cytostaticum.

In de volgende sequentieserie is ieder cytostaticum weer gedurende 24 uur toegediend, waarbij de dosis is gehalveerd. Bij dit schema treedt een sterke afname van de mortaliteit (3/7) op met een goed effect op de regionaal doorstroomde tumor. Verder verlagen van de doses tot 1/3 van de oorspronkelijke waarde doet de mortaliteit geheel verdwijnen (0/10) met behoud van een zeer goed effect op de regionaal doorstroomde tumor en een duidelijke afname van het

effect aan de systemisch behandelde kant. De algemene conditie van de dieren is opvallend goed, met slechts een gewichtsvermindering tot 92,1% van het gewicht bij het begin van de infusie.

Combinatieschema's waarbij geen duidelijk verschil in effect op de tumorgroei aan de regionale en systemische kant optreedt, vertonen alle een hoge mortaliteit en veroorzaken doorgaans een matig effect op de tumorgroei. De combinatieschema's waarbij het verschil echter wel duidelijk is, zijn minder toxisch (geringere mortaliteit) en vertonen een krachtig effect op de regionaal behandelde tumor. De conclusie die voor de werkzame enkelvoudig toegediende cytostatica geldt, blijkt dus ook op werkzame combinaties van cytostatica van toepassing te zijn, vooral als het schema met een geringe tot matige algemene toxiciteit (mortaliteit) gepaard gaat: de intra-arteriële weg van toediening is ook nu superieur aan de systemische. Hiermee is de derde vraagstelling beantwoord.

De vierde vraagstelling luidde: 'Is het mogelijk om in het diermodel een combinatiebehandeling met enkele cytostatica te ontwikkelen waarvan de therapeutische index beter is dan van het beste schema van enkelvoudige chemotherapie?'

Van de onderzochte combinatieschema's wordt bij sequentieel intermitterende toediening van BLM, MTX en 5-FU bij geringe algemene toxiciteit het krachtigste effect op de tumorgroei waargenomen. Bij het laagst gedoseerde schema (tabel VII) treedt geen sterfte op, waarbij toch een zeer goed effect op de regionaal behandelde tumor wordt verkregen (tabel VIII). Dit resultaat is superieur aan ieder ander schema dat in dit model in voldoende mate is onderzocht. De enkelvoudige toediening van bijvoorbeeld BLM 120 mg/kg/week geeft bij een mortaliteit van 1/5 een overeenkomstig effect, echter met een afname van het lichaamsgewicht tot ongeveer 81%.

Dit is statistisch significant ($p < 0,05$) méér gewichtsverlies dan het verlies (tot 92%) dat bij sequentieel intermitterende toediening van BLM, MTX en 5-FU optreedt. De toediening van BLM 30 mg/kg/week gaat met een gewichtsverlies tot 93% van het oorspronkelijke gewicht gepaard, hetgeen overeenkomt met het gewichtsverlies van het sequentieel intermitterende schema III (tabel VII). Beiderzijds is van BLM het regionale effect echter significant ($p < 0,05$) geringer dan bij dit schema III.

Met de toediening van 5-FU is het effect slechts met een hoge dosis te evenaren waarbij de mortaliteit zelfs 4/5 bedraagt. Het resultaat van het sequentieschema is vooral opvallend omdat één van de drie toegediende cytostatica mogelijk geen effect op de tumor heeft. MTX draagt vermoedelijk wel bij tot de algemene toxiciteit, maar desondanks treedt bij sequentiële toediening van de drie cytostatica - bij een vergelijkbaar effect - minder toxiciteit op dan bij enkelvoudige toediening. Het is geenszins uitgesloten dat MTX in dit model in de combinatie opgenomen tot versterking van de werking bijdraagt. Het sequentieel-intermitterende schema (in de laagste dosering) is tevens vergeleken met een intermitterend schema van BLM alléén (IV.5.d) waarbij 10 mg/kg BLM op dag 1, 3 en 5 gedurende 24 uur is toegediend. Bij een vergelijking van deze twee schema's kan men het intermitterende BLM schema beschouwen als afgeleid van het sequentieel-intermitterende schema waarbij methotrexaat op dag 3 en 5-FU op dag 5 in het sequentieel-intermitterende schema door BLM is vervangen. Het intermitterende schema met BLM veroorzaakt een iets groter gewichtsverlies (tot 88% van het oorspronkelijke gewicht) en een mortaliteit van 2/12 met een duidelijk zwakker effect op de regionaal doorstroomde tumor dan sequentieel-intermitterende behandeling. Tevens is het opmerkelijk dat 5-FU en MTX die ieder op zich toxischer (en

minder werkzaam) zijn dan BLM in de sequentiële combinatie van de drie cytostatica minder toxiciteit veroorzaken dan de intermitterende toediening van BLM alléén. De veronderstelling wordt daarom geopperd dat de sequentieel intermitterende toediening van de drie cytostatica een sparend effect heeft op de normale weefsels. Het goede resultaat, zowel ten aanzien van het effect op de regionaal behandelde tumor als de geringe toxiciteit welke optreedt bij het sequentieel intermitterend schema, berust blijkbaar niet alléén op het intermitterende karakter van de toediening - gezien de resultaten van intermitterend toegediend BLM - en het is daarom niet uitgesloten dat onderlinge interactie van de cytostatica een rol speelt. Deze resultaten tonen aan dat een combinatie van drie cytostatica, sequentieel-intermitterend toegediend, bij een overeenkomstig effect op de tumor een geringere algemene toxiciteit kan hebben dan een enkelvoudig toegediend werkzaam cytostaticum.

Dit sparende effect op de normale weefsels verhoogt de therapeutische index van de behandeling. In dit experiment blijkt het zelfs het geval te zijn als de tumor voor één van de drie cytostatica niet of zeer weinig gevoelig is.

Met deze conclusie is de vierde vraagstelling beantwoord.

Met het beschreven diemodel is het op betrouwbare wijze mogelijk een uitspraak te doen over de keuze van de weg van toediening van een cytostaticum. Gezien de opzet speelt daarbij de specifieke gevoeligheid van de tumor geen essentiële rol. Bij de interpretatie van dierexperimentele gegevens over de superioriteit van een behandelingschema is echter voorzichtigheid geboden. Het vaststellen van een ideaal behandelingschema met cytostatica waarbij in het diemodel slechts één type experimentele tumor wordt gebruikt, houdt

beperkingen in. Bij een ideaal diermodel moet van een groot aantal experimentele tumoren gebruik worden gemaakt om op grond van verschillende behandelingsresultaten een uitspraak te kunnen doen over de superioriteit van een cytostaticum of een combinatie van cytostatica. Vooral wanneer deze conclusies geëxtrapoleerd worden van het dierexperiment naar de kliniek mogen de eigenschappen van de gebruikte experimentele tumor geen rol spelen. Er zijn grote verschillen tussen experimentele tumoren en humane tumoren. Het is echter wel bekend dat ten aanzien van de algemene toxiciteit grote overeenkomsten bestaan tussen de beenmergreacties bij de muis en de rat enerzijds en de mens anderzijds. Het is daarom mogelijk om verschillen in algemene toxiciteit van de verschillende schema's naar klinische maatstaven te vertalen. In dit onderzoek is de winst van het beste sequentiële combinatieschema niet zo zeer gelegen in het uiteindelijke effect op de tumorgroei dan wel in de afname van de algemene toxiciteit. De vermindering van algemene toxiciteit gaat bij deze experimenten vrijwel altijd samen met een afname van het effect op de tumor aan de systemisch behandelde kant. De indruk bestaat dat een dergelijk schema in enige mate selectief op de regionaal behandelde tumor werkt en daarnaast sparend is voor de normale weefsels en de systemisch behandelde tumor. Dit sparend effect betreft dan waarschijnlijk ook het beenmerg en de darmmucosa, omdat de mortaliteit afneemt.

Enkele voorzichtige uitspraken kunnen derhalve op grond van deze experimentele gegevens over de klinische toepassing van I.A. chemotherapie bij de behandeling van tumoren in het hoofdhalsg gebied worden gedaan. I.A.-toediening van BLM en 5-FU is beter dan systemische toepassing. Mogelijk geldt dit ook voor MTX, hetgeen helaas in dit experiment niet kon worden bevestigd, omdat de tumor voor MTX ongevoelig lijkt te zijn. Een werkzame combinatie van I.A. toe-

gediende cytostatica vertoont eveneens een krachtiger effect op de regionaal behandelde tumor dan op de systemisch behandelde. De winst bij het laag gedoseerde sequentieel-intermitterende schema zit voornamelijk in de afname van het effect op de gezonde weefsels - met dus vermindering van de algemene toxiciteit - waarbij ook de systemisch behandelde tumor minder effectief wordt geremd. Het gelijktijdig combineren van cytostatica veroorzaakt in dit diermodel een grote algemene toxiciteit, zodat klinische toepassing niet aangewezen lijkt. Mogelijk spelen hierbij farmacologische interacties een rol. Deze conclusies kunnen als algemene richtlijnen bijdragen tot de verdere ontwikkeling van effectieve I.A. combinatie chemotherapie schema's in de kliniek.

SAMENVATTING

In hoofdstuk I van dit proefschrift wordt een literatuuroverzicht gegeven van de klinische ervaringen welke met chemotherapie in het hoofd-halsgebied - en in het bijzonder de intra-arteriële en combinatiebehandeling daarvan - zijn opgedaan. Hierbij doen zich een aantal vragen voor welke door middel van een dier-experimenteel model worden getracht te beantwoorden.

In hoofdstuk I.7. zijn de vraagstellingen geformuleerd.

In hoofdstuk II wordt de ontwikkeling van het diermodel besproken, uitgaande van de door Sindram toegepaste techniek van occlusieve canulatie van de arteria carotis communis. Bij deze methoden doen zich echter circulatiestoornissen in het tumorgebied voor (II.3.) zodat gezocht wordt naar een canulatietechniek welke meer in overeenstemming is met de in de kliniek toegepaste retrograde canulatie van een zijtak van de arteria carotis externa waarbij geen duidelijke veranderingen optreden.

In hoofdstuk III wordt de uitvoering van het dierexperiment besproken. De ratten hebben een in beide oren geïmplantéerd plaveiselcelcarcinoom. Als maat voor de tumorregressie wordt het produkt van de diameters van de in drie richtingen gemeten tumor gehanteerd. Het is mogelijk om in één dier bij eenzelfde algemene toxiciteit het effect op de regionaal geïnfundeerde tumor te vergelijken met het effect op de systemisch behandelde andere tumor. Bij de infusiebehandeling wordt uitsluitend van bleomycine, 5-fluorouracil en methotrexaat gebruik gemaakt omdat deze cytostatica in de kliniek werkzaam zijn gebleken.

De intra-arteriële infusie van bleomycine en 5-fluorouracil veroorzaakt een krachtiger effect op de regionaal geïnfundeerde tumor dan op de systemisch behandelde tumor. Het regionale effect wordt pas aan de systemisch behandelde zijde geëvenaard door de toegediende dosis te verhogen met resp. factor 3,8 en 2,5. De tumor blijkt voor methotrexaat niet duidelijk gevoelig te zijn. Bij het intra-arterieel toedienen van combinaties van cytostatica is voor alle drie in het diermodel onderzochte cytostatica gekozen, uitgaande van de veronderstelling dat ook bij klinische toepassing combinaties niet uitsluitend zijn samengesteld uit ieder op zich werkzame cytostatica, omdat de specifieke gevoeligheid van de tumor niet bekend is.

Bij het toedienen van combinaties van relatief lage doses van bleomycine, methotrexaat en 5-fluorouracil is gebleken dat een sequentieel intermitterende toediening van deze cytostatica welke ieder gedurende 24 uur zijn geïnfundéerd een zeer goed effect op de regionaal doorstroomde tumor veroorzaakt met slechts geringe algemene toxiciteit. Het effect op deze is duidelijk beter dan op de systemisch behandelde tumor.

De conclusie die voor werkzame, enkelvoudig toegediende, cytostatica geldt, blijkt dus ook op werkzame combinaties van cytostatica van toepassing te zijn, vooral als de behandeling met een geringe tot matige algemene toxiciteit gepaard gaat:

De intra-arteriële toediening is superieur aan de systemische.

In hoofdstuk V worden de conclusies besproken.

Bij vergelijking van de beste enkelvoudige behandeling - bleomycine continu toegediend - met het laagst gedoseerde sequentieel intermitterende schema blijkt dat de effecten op de regionaal behandelde tumoren bij gelijke mortaliteit niet duidelijk verschil-

len met echter significant meer gewichtsverlies bij de enkelvoudige toediening van bleomycine. Het blijkt dus dat sequentieel intermitterende intra-arteriële toediening van cytostatica minder toxisch kan zijn dan een goed enkelvoudig behandelingschema. De winst van de sequentieel intermitterende behandeling zit dus vooral in het sparende effect op de normale weefsels waardoor de therapeutische index vergroot wordt.

Op grond van de resultaten van dit dierexperimenteel onderzoek kunnen enkele uitspraken over de klinische toepassing van intra-arteriële chemotherapie bij de behandeling van tumoren in het hoofd-halsgebied worden gedaan.

Intra-arteriële infusie van werkzame cytostatica is beter dan systemische toediening. Op grond hiervan is de toepassing van intra-arteriële chemotherapie in behandelcentra waar ruime ervaring met deze techniek is opgedaan, volledig gerechtvaardigd. Ook verdient de klinische toepassing van een combinatie van cytostatica bij de behandeling van tumoren in het hoofd-halsgebied de aandacht. Een werkzaam combinatieschema zal langs intra-arteriële weg toegediend eveneens superieur zijn aan de systemische toediening.

The intra-arterial administration of anticancer drugs has played a considerable role in the development of chemotherapy in the head and neck and still occupies an important though controversial place. There are no well controlled clinical trials available that compare intravenous to intra-arterial drug administration. Several publications however, seem to show the superiority of the intra-arterial route of administration over the systemic use. Definite clinical evaluation of intra-arterial chemotherapy in the head and neck will remain a problem. Because of the relatively small number of patients treated in each separate centre, multi-institutional controlled clinical trials are needed. To carry out such a trial however is extremely difficult and attempts so far have failed.

From 1971 on we have been interested in establishing an animal model in order to get further information about intra-arterial chemotherapy. Initially a model was constructed in rats using occlusive catheterisation of the common carotid artery on one side and a transplanted rhabdomyosarcoma in the front margin of both ears (Sindram, 1973). A major deficiency of this model was the blocking of the bloodstream on the cannulated side. Further study was primarily directed to establishing a model that should be analogous to the human situation of external carotid artery catheterisation.

Secondly it seemed to be useful to test other agents as well in this model so as to have further evidence on the superiority of intra-arterial administration. Furthermore it appeared interesting to compare multiple drug regimens with single agent therapy. In this study the results are reported.

The experimental set-up is described. Rats are used having a squamous cell carcinoma implanted in the front margin of both ears. The tumour

volume is calculated from three measured dimensions. The rate of regression is determined by comparing the tumour volumes before and after treatment. This treatment is done by intra-arterial infusion during a 7 days period. For this purpose retrograde canulation of the left facial artery is carried out by using an operation microscope. So the left tumour is treated regionally and the right one receives the drug(s) systemically. In each animal the regional effect on the tumour is compared with the systemically treated tumour at the same level of toxicity. Bleomycin, 5-fluorouracil and methotrexate are the drugs studied. The tumour responds to two of the three drugs tested, these being bleomycin and 5-fluorouracil. For both drugs intra-arterial administration proves to be significantly superior over the systemic route: to obtain similar anti-tumour effects a dose higher by respectively a factor 3,8 and 2,5 - of course associated with a dramatic increase of general toxicity - is needed via the systemic route as compared to the intra-arterial route.

Unfortunately the tumour used does not respond to methotrexate and therefore for this drug no conclusions could be made regarding the relative benefits of intra-arterial administration.

Because of the fact that in today's clinical cancer chemotherapy practice attention is very much focused on multiple drug regimens, we were particularly interested in applying such regimens in our model, combining all of the forementioned drugs. Methotrexate, although not effective when used alone, was included, because this was felt to imitate the human situation more closely since it is impossible to determine the activity of all compounds used in a multiple drug protocol in a particular patient with a particular tumour.

Simultaneous administration of all three drugs did not improve the results; on the contrary such a combination turned out to be less effective than single agent therapy with bleomycin or 5-fluorouracil. However by reducing the time of exposure to each drug to 24 hours and interpola-

ting 24 hours intervals of saline infusion between drug infusions, the antitumour effects could be considerably enhanced at the benefit of the intra-arterial route compared at the same mortality. Such an intermittent sequential combination chemotherapy regimen proved to have a very good effect on the regionally infused tumour with moderate general toxicity. This antitumour effect does not differ from that of the best single agent schedule as tested in this study, the continuous intra-arterial infusion of bleomycin. With the intermittent sequential combination of drugs however, there is a significant lower loss of weight than with single agent therapy to obtain this regional effect on the tumour. The benefit of this schedule is principally found in the preservation of normal tissues, this resulting in the enhancement of the therapeutic index.

From these experiments it can be concluded that intra-arterial administration of cytotoxic drugs is superior over the systemic use. This experimental evidence lends strong support to continue the clinical application of intra-arterial chemotherapy on selected cases of head and neck cancer. Serious consideration should be given to intermittent multiple-drug regimens.

LITERATUUROPGAVE

Auersperg, M., E. Soba, M. Erjavec, M. Us-Krasovec, M. Jenko, Chemotherapy with synchronization in advanced cancer of the head and neck. Radiol. Jugosl. 4, 565, (1976)

Barendsen, G.W., H.C. Janse, B.F. Deys en C.F. Hollander, Comparison of growth characteristics of experimental tumours and derived cell cultures. Cell Tissue Kinet. 10, 469, (1977)

Bertino, J.R., B. Boston en R.L. Capizzi, The role of chemotherapy in the management of cancer of the head and neck: a review. Cancer 36, 752, (1975)

Bilder, J. en J. Hornova, Analysis of the results of regional chemotherapy for carcinomas of the orofacial region. Neoplasma (Bratisl.) 17, 85, (1970)

Broder, L.E. en D.C. Tormey, Combination chemotherapy of carcinoma of the breast. Cancer Treatment Reviews, 183, (1974)

Broquet, M.A., E. Jacot-Descombe, A. Mantandon en P. Alberto, Traitement des carcinomes épidermoïdes oro-pharyngo-laryngés par combinaison de Méthotrexate et de Bléomycine. Schweiz. med. Wschr. 104, 18, (1974)

Broughton, A., J.E. Strong, P.Y. Holoye en C.W.M. Bedrossian, Clinical pharmacology of bleomycin following intravenous infusion as determined by radioimmunoassay. Cancer 40, 2772, (1977)

Buckberg, G.D., J.C. Luck, D.B. Payn, J.I.E. Hoffman, J.P. Archie, D.E. Fixler, Some sources of error in measuring regional bloodflow with radioactive microspheres. The journal of applied physiology 31, 598, (1971)

Burchenal, J.H., Geographic Chemotherapy-Burkitt's tumour as a stalking horse for leukemia, Cancer Research, 26, 2393, (1966)

Canellos, G.P., V.T. Devita, G. Gold, B.A. Chabner, P.S. Schein, R.C. Young, Cyclical combination chemotherapy for advanced breast carcinoma, Br. Med. J. 1, 218, (1974)

Capizzi, R.L., R.C. Deconti, J.C. March en J.R. Bertino, Methotrexate therapy of head and neck cancer: improvement in therapeutic index by the use of leucovorin 'rescue'. Cancer Res. 30, 1782, (1970)

Carter, S.K. en W.T. Soper, Integration of chemotherapy into combined modality treatment of solid tumours, Cancer Treatment Reviews 1, 1, (1975)

Cotino, H.H., Intra-arteriële infusie van de rattelever in vivo. Proefschrift Leiden, (1974)

Couture, J., Intra-arterial infusion therapy for oral cancer. Can. J. of surg. 11, 420, (1968)

Cruz, Jr. A.B., W.D. Mcinnis, J.B. Aust, Triple drug intra-arterial infusion combined with X-ray therapy and surgery for head and neck cancer. The Am. J. of Surg. 10, 573, (1974)

Djerassi, I., High dose methotrexate (NSC-740) and citrovorum factor (NSC-3590) rescue: background and rationale. Cancer Chem. Rep. 6, 1, (1975)

Donaldson, S.S., J.R. Castro, J.R. Wilbur en R.H. Jesse, Rhabdomyosarcoma of head and neck in children. Combination treatment by surgery, irradiation, and chemotherapy. Cancer 31, 26, (1973)

Donegan, W.L. en P. Harris, Regional chemotherapy with combined drugs in cancer of the head and neck. Cancer 38, 1479, (1976)

Dowell, K.E., D.M. Armstrong, J.B. Aust en A.B. Cruz Jr., Systemic chemotherapy of advanced head and neck malignancies. Cancer 35, 1116, (1975)

Duschinsky, R., E. Plevin, C. Heidelberger, The synthesis of 5-fluoropyrimidines. J. Amer.chem.Soc. 79, 4559, (1957)

Essen, C. von, L. Joseph en G. Simon, Sequential chemotherapy and radiation therapy of buccal mucosal carcinoma in South India. Am.J. Roentgenol. 102, 530, (1968)

Freckman, H.A., Results in 169 patients with cancer of the head and neck treated by intra-arterial infusion therapy. The Am.J. of surg. 10, 501, (1972)

Goldsmith, M.A. en S.K. Carter, The integration of chemotherapy into a combined modality approach in squamous cell cancer of the head and neck. Cancer Treatment Reviews 2, 137, (1975)

Gollin, F.E., F.J. Ansfield en J.H. Brandenburg, Combined therapy in advanced head and neck cancer -a randomized study. Am.J. Roentgenol. 114, 83, (1972)

Heidelberger, C., Fluorinated pyrimidines. Progr.nucleic Acid Res. molec. Biol.4, 1, (1965)

Henderson, E.S., R.H. Adamson en V.T. Oliverio, The metabolic fate of tritiated methotrexate. II. Absorption and excretion in man. Cancer Res., 25, 1018, (1965)

Hermens, A.F. en G.W. Barendsen, Cellular proliferation patterns in an experimental rhabdomyosarcoma in the rat. Europ.J.Cancer 3, 361, (1967)

Hermens, A.F. en G.W. Barendsen, Changes of cell proliferation characteristics in a rat rhabdomyosarcoma before and after X-irradiation. Europ.J. Cancer 5, 173, (1969)

Huntington, M.C., R.W. du Priest en W.S. Fletcher, Intra-arterial Bleomycin therapy in inoperable squamous cell carcinomas. Cancer 31, 153 (1972)

Huseby, R.A. en V. Downing, The use of methotrexate orally in treatment of squamous cancers of the head and neck. CCR 16, 511, (1962)

Hustu, H.O., D. Pinkel en C.B. Pratt, Treatment of clinically localized Ewing's sarcoma with radiotherapy and combination chemotherapy. Cancer 30, 1522, (1972)

Jaffé, N., S. Sallan, D. Traggis, R. Cassady en G. Vawter, Proceedings American Society of clinical oncology, 15, 184, Abstract 800.

Johns, D.J., J.W. Hollingsworth, A.R. Cashmore, I.H. Plenderleith en J.R. Bertino, Methotrexate displacement in man. J.Clin.Invest. 43, 621, (1964)

Johnson, R.O., W.A. Kisten en A.R. Curreri, A report on arterial infusion with 5-fluorouracil in 100 patients. Surg. Gynaecol.Obstet. 120, 530, (1965)

Kramer, S., Radiation therapy and chemotherapy combination. JAMA 217, 946, (1971)

Livingston, R.B., L.H. Einhorn, M.A. Burgess en J.A. Gottlieb, Sequential combination chemotherapy for advanced, recurrent, squamous carcinoma of the head and neck. Cancer Treatment Reports 1, 103, (1976)

Lokich, J.J. en E. Frei III, Phase II study of concurrent methotrexate and bleomycin chemotherapy. Cancer Res. 34, 2240, (1974)

Malik, A.B., J.E. Kaplan en T.M. Saba, Reference sample method for cardiac output and regional bloodflow determinations in the rat. J. Appl. Fysiol. 40, 472, (1976)

Meijer, N.C.en G.B. Snow, Ervaringen met bleomycine bij tumoren in het hoofd-halsgebied. N.T.v.G. 120, 6, 237, (1976)

Mukherjee, K.L., A.R. Curreri, M. Javid en C. Heidelberger, Studies on fluorinated pyrimidines. XVII. Tissue distribution of 5-fluorouracil-2-C¹⁴ and 5-fluoro-2-deoxyuridine in cancer patients. Cancer Res. 23, 67, (1963)

Nervi, C., C. Casale en M. Cortese, Protracted intra-arterial chemotherapy with sequential courses of antimitotics and hydrogen peroxyde in the treatment of head and neck tumours. Extrait de la revue française d'études cliniques et biologiques, 1, 51, (1969)

O'Connor, A.D., P. Clifford, D.J. Durden Smith, W. Edwards, B.A. Hollis en V.M. Dalley, Synchronous VBM and radiotherapy in the treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck. Clinical Otolaryngology 1, 347, (1977)

Penta, J.S., Overview of protocols on clinical studies of high-dose methotrexate with citrovorum factor rescue. Cancer Chem. Rep. 6, 1, (1975)

Pitman, S.W., L.M. Parker, M.H.N. Tattersall, N. Jaffé en E. Frei III, Clinical trial of high-dose methotrexate with citrovorum factor-Toxicologic and therapeutic observations. Cancer Chem. Rep. 6, 1, (1975)

Pouillart, P., L. Schwarzenberg en G. Mathé, Une nouvelle approche pour les combinaisons chimiothérapiques dans le traitement des tumeurs solides. Ann. Méd. Interne, 5, 437, (1973)

Price, L.A., B.T. Hill en A.H. Calvert, Kinetically-based multiple drug treatment for advanced head and neck cancer. Brit. Med. J. 3, 10, (1975)

Reinhold, H.S., Stralingsgevoeligheid van tumoren. Proefschrift, Rotterdam, (1967)

Reyes, P. en C. Heidelberger, Fluorinated pyrimidines. XXVI. Mammalian thymidylate synthetase: Its mechanism of action and inhibition by fluorinated nucleotides. Molec. Pharmacol. 1, 14, (1965)

Richard, J.M., H. Sancho en J. Brugere, Intra-arterial methotrexate in head and neck tumors. Europ. J. Cancer 9, 847, (1973)

Richard, J.M. en G.B. Snow, Present role of chemotherapy in head and neck cancer. Proceedings of the international Symposium on Cancer of the head and neck, Montreux, Zwitserland. Excerpta Medica 1976.

Roding, T.J., Over de invloed van exogene ATP op tumorgroei in het in vitro en het in vivo model. Proefschrift Amsterdam, (1977)

Rosen, G., N. Wollner, C. Tan, S.J. Wu, S.I. Hodju, W. Cham, G.J. D'Angio en M.L. Murphy, Disease free survival in children with Ewing's sarcoma treated with radiation therapy and adjuvant four-drug sequential chemotherapy. Cancer 33, 384, (1974)

Seeger, D., J.M. Smith en M. Hultquist, Antagonist for pteroglutamatic acid. J. Americ. Chem. Soc. 69, 2567, (1947)

Sindram, P.J., Intra-arteriële infusie van methotrexaat bij de rat. Proefschrift Leiden, (1973)

Sullivan, R.D., E. Miller en M.P. Sikes, Anti-metabolite-metabolite combination cancer chemotherapy (effects of intra-arterial methotrexate intramuscular citrovorum factor therapy in human cancers). Cancer 12, 1248, (1959)

Teale, T.D., J.M. Clough en V. Marks, Radioimmunoassay of bleomycin in plasma and urine. Br. J. Cancer 35, 822, (1977)

Umezawa, H., Studies on bleomycin: chemistry and the biological action. Biomedicine, 18, 459, (1973a)

Umezawa, H., Principles of antitumor antibiotic therapy. In, Cancer Medicine. (Holland, J.F. en E. Frei III, Eds.)

Versluis, R.J.J., G.B. Snow en W.J.F. van der Vijgh, Spiegelbepalingen i bloed en urine bij patienten met een plaveiselcelcarcinoom in het hoofdhalsgebied. Ter perse, (1978)

STELLINGEN

I

In een diermodel is het mogelijk de intra-arteriële infusie van cytostatica bij de behandeling van tumoren in het hoofd-halsgebied, analoog aan de bij de mens toegepaste techniek, te onderzoeken.

II

De intra-arteriële infusie van een cytostaticum waarvoor de te behandelen tumor gevoelig is, en dat niet in het lichaam geactiveerd hoeft te worden, is meestal superieur aan de systemische toediening ervan.

III

Met de toediening van combinaties van cytostatica bij de behandeling van tumoren in het hoofd-halsgebied kan de therapeutische index vergeleken met enkelvoudige toediening van een cytostaticum worden verbeterd.

IV

De intra-arteriële toediening van een effectieve combinatie van cytostatica, bij de behandeling van tumoren in het hoofd-halsgebied is superieur aan de systemische toediening ervan.

V

Dat de klinische ervaringen met immunotherapie bij de behandeling van maligniteiten teleurstellend zijn vergeleken met de experimentele gegevens, is vermoedelijk te wijten aan het feit dat bij experimentele studies veelal van sterk immunogene tumoren gebruik is gemaakt.

VI

Wanneer een supraglottisch larynxcarcinoom chirurgisch behandeld wordt en electieve behandeling van de hals geïndiceerd wordt geacht, verdient zg. 'functional neck dissection' de voorkeur boven bestraling van de hals.

VII

Het opofferen van de nervus facialis bij een totale parotidectomie wegens maligniteit is een kunstfout indien het technisch gezien mogelijk is een of meer van de zenuwtakken te sparen.

VIII

De slechte prognose van het gehoorgangcarcinoom wordt mede veroorzaakt door de neiging van de operateur de tumorresectie aanvaardbaar te sparen op te zetten.

IX

Bij een 'blow-out' van de arteria carotis communis als complicatie van een chirurgische ingreep is onderbinding van de arterie een discutabele maatregel.

X

Bij grote operatieve ingrepen in het hoofd-halsgebied is de kans op chirurgische complicaties boven de 70 jaar vergeleken met de groep onder de 70 jaar niet verhoogd, hoewel boven het 80ste jaar de kans op interne complicaties duidelijk toeneemt.

W.F. McGuirt, N.C. Winston-Salem, B.S. Sarn Loevy, B.F. McCabe en C.J. Krause, Laryngoscope, 87, 1378, 1977.

XI

Bij een primair geopereerd pleiomorf adenoom zonder tekenen van maligniteit uitgaande van de glandula parotis is slechts bij hoge uitzondering radiologische nabehandeling geïndiceerd.

XII

Bij melanoom van extremiteiten moet de indicatie voor isolatie-perfusie met chemotherapeutica op grond van meer criteria dan alleen de invasie-diepte volgens Clark gesteld worden.

XIII

De door Sanders beschreven techniek van venturi-injector beademing in combinatie met intraveneuze anaesthesie is ook bij endolaryngoscopisch onderzoek een belangrijke aanwinst voor de anaesthesist en de keel-, neus- en oorarts.

G. Vourc'h, Freche en Tran Ban Hui, Anaesthesia 32, 8, 1977.

XIV

Men kan zich niet onttrekken aan het gevoel dat het zgn. 'alternatieve denken' van sommige mensen voor een belangrijk deel op pure luiheid berust.