

ANWENDUNG DES INTRATUMORALEN ANTI-TUMOR-WIRKSTOFFS TIGILANOLTIGLAT BEI ZWEI PFERDEN

Use of the Intratumoural Anticancer Drug Tigilanol Tiglate in Two Horses



Thomas De Ridder¹, Mick Ruppin², Meagan Wheelless³,
Stephanie Williams³ und Paul Reddell¹

¹ QBiotics Group Ltd., Yungaburra, QLD, Australia, ² Tableland Veterinary Service, Malanda, QLD, Australia,

³ Tableland Veterinary Service, Edmonton, QLD, Australia

Shaping the future
of animal health



ABSTRACT

Tigilanoltiglat ist ein neuartiger niedermolekularer Wirkstoff mit Zulassung als Tierarzneimittel in Europa für die intratumorale Behandlung nicht metastasierender, nicht resezierbarer Mastzelltumore bei Hunden. Der Wirkstoff besitzt einen „tumoragnostischen“ Wirkmechanismus über die Einleitung einer akuten entzündlichen Reaktion an der Behandlungsstelle, die Rekrutierung von Immunzellen und die Zerstörung des tumoralen Blutgefäßsystems. Folglich besitzt Tigilanoltiglat das Potenzial zur Behandlung einer ganzen Reihe von Tumorarten bei Menschen und bei Tieren. Erforderlich sind jedoch wahrscheinlich speziesspezifische Dosierungsprotokolle und Protokolle für Begleittherapie, insbesondere für die Kontrolle der durch den Wirkstoff induzierten akuten entzündlichen Reaktion an der Behandlungsstelle. In einem ersten Schritt auf dem Weg zur Evaluierung von Tigilanoltiglat zur Behandlung von Hauttumoren bei Pferden haben wir ein pferdespezifisches Protokoll entwickelt mit (a) einer um 30 % reduzierten intratumoralen Tigilanoltiglat-Dosierungsrate im Vergleich zu der bei Hunden mit Mastzelltumoren eingesetzten Dosierungsrate und (b) einer medikamentösen Begleittherapie zur Kontrolle der arzneimittelinduzierten akuten entzündlichen Reaktion an der Behandlungsstelle. Hier präsentieren wir eine erste Studie zur praktischen Anwendung dieses Protokolls bei zwei Pferden zur Behandlung (i) eines aggressiven fibroblastischen Sarkoids, das nach chirurgischer Exzision rezidiert hatte, und (ii) eines schnell wachsenden periokulären Plattenepithelkarzinoms.

In beiden Fällen war die klinische Antwort auf die Behandlung mit Tigilanoltiglat vergleichbar mit der bei kaninen und humanen Patienten zu beobachtenden Antwort. An der Behandlungsstelle entwickelten sich schnell eine lokale Entzündung und ein Hämatom mit sichtbarer hämorrhagischer Nekrose des Tumors innerhalb von 24 Stunden. Innerhalb von 6 bis 16 Tagen kam es zu einem Ablösen der nekrotischen Tumormasse, gefolgt von einer Füllung des dabei entstandenen Gewebedefekts mit Granulationsgewebe und einer vollständigen Reepithelisierung der Behandlungsstelle mit guten funktionellen Ergebnissen. Die arzneimittelinduzierte Entzündung und Ödembildung an der Behandlungsstelle wurden durch die medikamentöse Begleittherapie kontrolliert und bildeten sich innerhalb von drei Tagen weitgehend zurück. Die nach dem Abfallen des Tumors entstandene Wunde heilte anschließend komplikationslos ab. Beide Patienten zeigten eine geringgradige Lethargie während der ersten 36 Stunden nach der Behandlung. Während der ersten drei bis fünf Tage nach der Behandlung waren lokale Beschwerden an der Behandlungsstelle festzustellen. Es gab keine Hinweise auf ein Rezidiv des Sarkoids nach 93 Tagen bzw. des Plattenepithelkarzinoms nach 189 Tagen.

Die Ergebnisse dieser Studie sprechen für eine Fortsetzung der Entwicklung und Evaluierung von Tigilanoltiglat als potenzielle zukünftige Behandlungsoption für Hauttumore bei Pferden.

Keywords: Pferd, Sarkoid, Karzinom, okulär, Neoplasie, intratumoral, Protokoll

EINLEITUNG

Tigilanoltiglat (auch bekannt unter der Bezeichnung EBC-46) ist ein neuartiger niedermolekularer Wirkstoff, der in der Europäischen Union und in Großbritannien als intratumoral zu applizierendes Tierarzneimittel für die Behandlung von nicht metastasierenden, nicht resezierbaren Mastzelltumoren bei Hunden zugelassen ist (1). Gegenwärtig befindet sich der Wirkstoff darüber hinaus in der klinischen Beurteilung als intratumorale Behandlungsoption für eine Reihe von weiteren kutanen und subkutanen Neoplasien bei Menschen und Haustieren (2–4). Tigilanoltiglat ist ein potenter Aktivator zellulärer Signalkaskaden mit multiplem Wirkungsmechanismus, der (a) eine schnelle, akute und sehr lokal begrenzte entzündliche Reaktion in einer Tumormasse und ihrer unmittelbaren Umgebung hervorruft, (b) eine Rekrutierung von Immunzellen induziert, (c) einen Verlust der Integrität der Tumorblutgefäße verursacht sowie (d) einen Tumorzelltod durch Onkose einleitet (5). Bei wirksamer Dosierung der Substanz führen diese Prozesse zu einer hämorrhagischen Nekrose und zur Zerstörung des Tumors innerhalb von sieben Tagen, gefolgt von einer Abheilung der dabei entstehenden Wunde (Gewebedefekt) mit guten funktionellen und kosmetischen Ergebnissen (1). Da dieser multifaktorielle Wirkungsmechanismus zu einem signifikanten Teil auf einer Reaktion des „Wirtsgewebes“ auf die Behandlung beruht (z. B. Rekrutierung von Immunzellen und Effekte auf die Tumorblutgefäße) und weniger auf der intrinsischen Sensitivität der Tumorzellen per se, kann Tigilanoltiglat als „tumoragnostisch“ bezeichnet werden. Diese Substanz besitzt damit das Potenzial einer Wirksamkeit gegen eine Reihe verschiedener Tumorarten (unabhängig von deren Ursprungszellen oder spezifischen Tumorgenmutationen) bei verschiedenen Tierarten.

Sarkoide und Plattenepithelkarzinome sind häufige Hauttumore bei Pferden (6, 7). Diese Tumorarten metastasieren zwar nur selten, beide können jedoch hochgradig invasiv in lokalem Gewebe wachsen und folglich mit den gegenwärtig verfügbaren Standardtherapien schwierig wirksam zu behandeln sein (8, 9), insbesondere in unmittelbarer Nachbarschaft zu kritischen Geweben im Bereich von Kopf, Perinealregion und Gliedmaßen Gelenken. Darüber hinaus neigen diese Neoplasien zu hohen Rezidivraten, und Sarkoide zeigen eine Tendenz zur Entwicklung von Therapieresistenz gegenüber nachfolgenden therapeutischen Interventionen (6).

Im ersten Stadium des Forschungsprogramms für die Evaluierung des Potenzials von Tigilanoltiglat zur Behandlung von Hauttumoren bei Pferden wurde eine Pilotstudie zur Sicherheit von Tigilanoltiglat bei Pferden durchgeführt. Diese unveröffentlichte Studie zeigt, dass die arzneimittelinduzierte akute Entzündungsreaktion an der Behandlungsstelle bei subkutaner

Injektion von Tigilanoltiglat in gesunde Pferdehaut robuster war und eine ausgedehntere lokale Ödem- bildung zur Folge hatte als die entsprechende Reaktion bei Hunden nach subkutaner Injektion mit ähnlichen Dosen. Diese Beobachtung deckt sich mit (a) der bekannten höheren Empfindlichkeit von Pferden gegenüber zahlreichen entzündlichen Reizen (was sich z. B. in überschießenden Reaktionen widerspiegelt, die Pferde für häufige entzündliche Erkrankungen wie Asthma, Kolik und Hufrehe prädisponieren) und (b) den zwischen Pferden und Hunden zu beobachtenden Unterschieden in der Natur und in der Induzierung von Akute-Phase-Reaktionen auf Traumata (10, 11). Auf der Grundlage dieser klinischen Beobachtungen kam man schließlich zu der Schlussfolgerung, dass die gegenwärtig bei Hunden und Menschen zur Behandlung von Neoplasien eingesetzten Tigilanoltiglat-Protokolle für Pferde nicht geeignet sein könnten. Insbesondere die Entwicklung ausgedehnterer lokaler Ödeme im Zusammenhang mit der akuten arzneimittelinduzierten Entzündungsreaktion an der Behandlungsstelle könnte bei Pferden zur Entstehung umfangreicherer Wunden nach dem Ablösen des Tumors führen. Um diese Aspekte zu berücksichtigen, wird gegenwärtig ein pferdespezifisches Tigilanoltiglat-Behandlungsprotokoll im Rahmen einer vorläufigen Studie evaluiert. Ziel ist es, das Ausmaß der akuten Entzündungsreaktion an der Behandlungsstelle zu reduzieren. Dieses Protokoll besteht aus einer Kombination von (a) stehender Sedierung, (b) reduzierter Tigilanoltiglat-Dosierungsrate und (c) antiinflammatorischer medikamentöser Begleittherapie nach der Behandlung.

Hier berichten wir über zwei initiale Fälle bei Pferden, die mit diesem pferdespezifischen Tigilanoltiglat-Protokoll behandelt wurden. Im ersten Beispiel handelt es sich um ein aggressives fibroblastisches Sarkoid, das nach einer chirurgischen Resektion rezidiert hatte, das zweite Beispiel ist ein schnell wachsendes Plattenepithelkarzinom am linken medialen Kanthus, bei dem zusätzliche Maßnahmen zum Schutz des Auges und zur maximal möglichen Reduzierung der entzündlichen Auswirkungen der Behandlung auf das Auge ergriffen wurden.

METHODEN

Die QBiotics Group wurde von behandelnden Tierärzten ersucht, herauszufinden, ob zwei unterschiedliche von ihnen betreute Fälle für eine vorläufige Studie zur Evaluierung der Sicherheit und Wirksamkeit einer Tigilanoltiglat-Behandlung von Tumoren bei Pferden infrage kämen. Man einigte sich darauf, beide Fälle mit einem tierethisch abgedeckten Studienprotokoll zu behandeln unter der Voraussetzung, dass (i) die Tumore eine moderate Größe (Volumen $< 6 \text{ cm}^3$) aufwiesen, die eine konservative Tigilanoltiglat-Dosierung von $< 2 \text{ mg}$ erforderte, (ii) beide Pferde außer der zu behandelnden



Abbildung 1

Verlauf der klinischen Antwort eines fibroblastischen Sarkoids nach Behandlung mit Tigilanoltiglat. (A) Das gestielte Sarkoid vor der Behandlung; (B, C) Behandlungsstelle nach chirurgischer Exzision des Stiels, um die Vermessung der Sarkoidbasis für die Berechnung der Tigilanoltiglat-Dosierung unmittelbar vor der Injektion zu ermöglichen; (D) Hämatom der Behandlungsstelle und hämorrhagische Nekrose 24 Stunden nach der Injektion; (E) Abfallen des Tumors an Tag 6; (F-H) Verlauf der Heilung an den Tagen 15, 27 und 36; (I) Keine Hinweise auf ein Rezidiv des Sarkoids an der Behandlungsstelle an Tag 93.

Läsion bei guter allgemeiner Gesundheit waren und dass (iii) die verfügbaren therapeutischen Standardoptionen (Chirurgie oder konventionelle Chemotherapie mit injizierbarem Cisplatin) bei der Behandlung der vorliegenden Läsionen wahrscheinlich mit Problemen behaftet sein würden und von den Besitzern abgelehnt wurden. Vor der Behandlung wurden die Besitzer über den Wirkstoff Tigilanoltiglat informiert und auf die verfügbaren alternativen Behandlungsoptionen hingewiesen, bevor sie die Einverständniserklärung unterzeichneten. Eine kurze Zusammenfassung des klinischen Bilds und des Vorberichts beider Patienten folgt unten.

VORBERICHTE

Fibroblastisches Sarkoid, das nach chirurgischer Resektion rezidiert hatte

Eine 11 Jahre alte Vollblutstute wurde im Februar 2020 bei Tableland Veterinary Service mit einem aggressiven, gestielten fibroblastischen Sarkoid an der Stirn medial des linken Auges vorgestellt (Abbildung 1A), das nach einer Ende Oktober 2019 durchgeführten chirurgischen En-bloc-Resektion mit Rändern im gesunden Gewebe rezidiert hatte. Zum Zeitpunkt des ersten chirurgischen

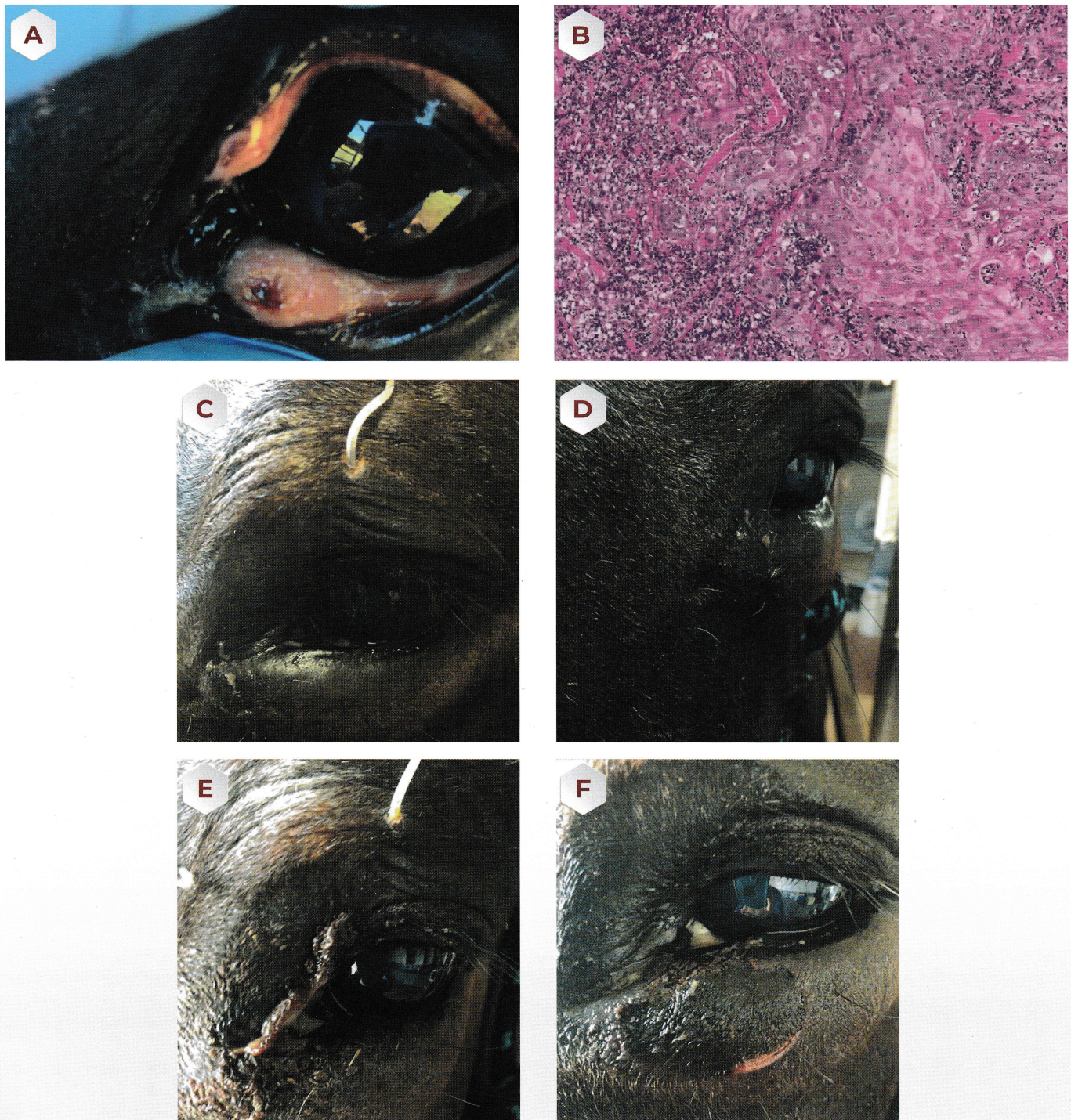


Abbildung 2

Verlauf der klinischen Antwort eines periokulären Plattenepithelkarzinoms nach Behandlung mit Tigilanoliglat. (A) Der Tumor vor der Behandlung; (B) Histopathologische Bestätigung der Diagnose eines Plattenepithelkarzinoms; (C, D) Ausmaß der lokalen Schwellung und Entzündung 24 Stunden nach der Behandlung; (E) Hämorrhagische Nekrose des Tumors und damit zusammenhängender Exsudatausfluss an Tag 3; (F) Deutlich umschriebener, schwarz verfärbter Bereich an der Behandlungsstelle mit Schorfbildung an Tag 4.

Eingriffs wurde die Zubildung vom behandelnden Tierarzt aufgrund ihres klinischen Erscheinungsbilds und ihres Verhaltens als verruköses Sarkoid diagnostiziert.

Periokuläres Plattenepithelkarzinom

Ein 22 Jahre alter Vollblut x Clydesdale-Wallach wurde dem behandelnden Tierarzt Anfang Oktober 2019 mit einer 4 mm großen, ulzerierten und schnell wachsenden Läsion am linken medialen Kanthus vorgestellt (**Abbildung 2A**). Zehn Monate zuvor (Mitte Dezember 2018) war nach Diagnose eines Plattenepithelkarzinoms im rechten medialen Kanthus eine Enukleation des rechten

Auges durchgeführt worden. In Anbetracht der Lokalisation der neuen Läsion und aufgrund des Vorberichts wurde vermutet, dass es sich auch jetzt wieder um ein Plattenepithelkarzinom handelte.

Behandlungsprotokoll

Das in dieser ersten Studie bei beiden Patienten angewendete Tigilanoliglat-Behandlungsprotokoll basierte auf einer Analyse der Ergebnisse der Pilotstudie zur Sicherheit bei Pferden. Der Fokus lag dabei auf (a) der Einfachheit der Arzneimittelapplikation und (b) auf der Minimierung der durch das Arzneimittel induzierten

TABELLE 1

Überblick über das in der Entwicklung befindliche Tigilanoltiglat-Behandlungsprotokoll für Sarkoide und Plattenepithelkarzinome, einschließlich okulärer und periokulärer Läsionen bei Pferden.


Komponente des Protokolls	Beschreibung/Kommentare
1. Sedierung	Stehende Sedierung im Ermessen des Tierarztes. In diesen Fällen erfolgte eine routinemäßige Sedierung mit Detomidinhydrochlorid (0,1 ml/100 kg), gegebenenfalls zusätzliche Gabe von Butorphanol (10 mg/ml; 0,1 ml/100 kg).
2. Lokale oder regionale Anästhesie 2a. Alle Patienten 2b. Okuläre/ periokuläre Läsionen	<ul style="list-style-type: none"> • Kann zur Minimierung der Patientenbewegung erforderlich sein, um eine adäquate Infiltration des Sarkoids zu erleichtern, abhängig von der Lokalisation (z. B. Ohrmuschel) und/oder Größe des Tumors • Auch eingesetzt zur Erleichterung von Biopsien nach der Behandlung, falls erforderlich • Blockade des N. auriculopalpebralis zur Minimierung der Patientenbewegung und zur Erleichterung der Infiltration der Tumormasse • Die Lokalanästhesie des Auges kann mit Augentropfen wie Proxymetacainhydrochlorid (0,5 %) verstärkt werden. • Auch eingesetzt zur Erleichterung von Biopsien nach der Behandlung, falls erforderlich
3. Einschätzung des Tumorumfanges	• Berechnung des Tumorumfanges mittels Caliper-Messung und basierend auf einer modifizierten Formel für eine Ellipse: TVolumen (cm ³) = ½ (Länge der Läsion x Breite der Läsion x Dicke der Läsion).
4. Berechnung der Tigilanoltiglat-Dosis 4a. Allgemein 4b. Okuläre mukokutane Läsionen 4c. Periorbitale Läsionen	<ul style="list-style-type: none"> • Dosierungsrate: 0,35 mg Tigilanoltiglat (1 mg/ml) pro cm³ des geschätzten Tumorumfanges • Mindestdosis: 0,1 mg bei kleinen Tumoren ≤ 0,3 cm³ • Maximaldosis pro Behandlung: 2 mg pro Tier, entsprechend ≤ 6 cm³ Gesamtumfanger pro Tier • Mindestdosis: 0,05 mg Tigilanoltiglat (1 mg/ml) • Maximaldosis pro Behandlung: 0,2 mg Tigilanoltiglat (1 mg/ml) • Mindestdosis: 0,05 mg Tigilanoltiglat (1 mg/ml) • Maximaldosis pro Behandlung: 2 mg bei Tumoren ≤ 6 cm³
5. Applikation der Dosis von der Seite von oben	 <ul style="list-style-type: none"> • Intratumorale Injektion wenn möglich über eine Injektionsstelle zur Reduzierung einer potenziellen Leckage der Dosis • 1 ml Luer-Lock-Spritze mit 26-G/19-mm-Kanüle • Injektion per „Fächertechnik“ (siehe Darstellung links), um eine maximale Verteilung und Perfusion im gesamten Tumor zu erreichen
6. Medikamentöse Begleittherapie 6a. Unmittelbar anschließend an die Behandlung 6b. Nach der Behandlung 6c. Okuläre mukokutane und periorbitale Läsionen (sehr wichtig)	<ul style="list-style-type: none"> • Einmalige Gabe von Flunixin-Meglumin (50 mg/ml IV über die V. jugularis in der Standarddosierung von 1,1 mg/kg • Phenylbutazon in einer Dosierung von 4,4 mg/kg, zweimal täglich oral, mindestens über die ersten 3 Tage, kann falls erforderlich über die folgenden 7 Tage verabreicht werden, reduziert auf 2,2 mg/kg zweimal täglich • Legen einer palpebralen Augenspülsonde zum Zeitpunkt der Behandlung • NSAID-Augenpräparat wie Ketorolac-Trometamol 0,5 % oder Ähnliches, 0,1 ml alle 6 Stunden bis zum Abfallen des Tumors • Atropinsulfatmonohydrat 1 % Augentropfen, 0,1 ml alle 6 Stunden bis zum Abfallen des Tumors • Kopfschutz zur Minimierung der UV-Lichtexposition des behandelten Auges • Sorgfältige Überwachung bis zum Abfallen des Tumors

TABELLE 2**Details des Behandlungsprotokolls für zwei intratumoral mit Tigilanoltiglat behandelte Fälle bei Pferden**

Komponente des Protokolls	Patient	
	Fibroblastisches Sarkoid	Periokuläres Plattenepithelkarzinom
Sedierung	0,5 ml Detomidinhydrochlorid (Dozadine Injection 10 mg/ml, Virbac, Australia)	0,5 ml Detomidinhydrochlorid (Dozadine Injection 10 mg/ml, Virbac, Australia) und 0,5 ml Butorphanol (Butorgesic 10 mg/ml; Ilium Troy, Australia)
Lokalanästhesie	Keine Lokalanästhesie, da der Patient als gut sediert beurteilt wurde mit guter Fixierung für eine adäquate Infiltration des Tumors ohne Leckage	Blockade des N. auriculopalpebralis mit Mepivacainhydrochlorid (Mepivacain Injection 20 mg/ml; Nature Vet, Australia). Zusätzlich anästhetische Augentropfen während der gesamten Prozedur nach Bedarf
Weitere Interventionen vor der Tigilanoltiglat-Behandlung	Nach Wirkungseintritt der Sedierung wurde der Stiel der gestielten Zubitlung mit einem Skalpell exzidiert (Abbildung 1A–C), sodass die Basis des Tumors für eine Einschätzung des Tumorumfanges vermessen werden konnte. Das exzidierte Gewebe wurde für die Histopathologie zurückgelegt.	<ul style="list-style-type: none"> • Proxymetacainhydrochlorid 0,5 % (Alcaine 0,5 %) Augentropfen am Augapfel und an der Bindehaut • Legen einer Augenspülsonde in das obere Augenlid zur Erleichterung der Applikation von Augenmedikamenten nach der Tigilanoltiglat-Behandlung
Geschätztes Tumorumfang (cm³)	1,4	0,4
Tigilanoltiglat-Dosis (ml)	0,5 ml	0,15 ml
Medikamentöse Begleittherapie		
a. Unmittelbar nach der Behandlung	10 ml Flunixin-Meglumin (Flunixon 50 mg/ml; Norbrook, UK) IV über die V. jugularis	10 ml Flunixin-Meglumin (Flunixon 50 mg/ml; Norbrook, UK) IV über die V. jugularis
b. Nach der Behandlung	Orales Phenylbutazon-Granulat (Butalone Granules 1 g; Apex Laboratories, Australia) 4,4 mg/kg 2 x täglich über die ersten 3 Tage, anschließend reduziert auf 2,2 mg/kg 2 x täglich für weitere 7 Tage	Phenylbutazon-Paste (Bute Paste 200 mg/ml, Ranvet, Australia) 5 ml PO über die ersten 14 Tage, anschließend reduziert auf 5 ml PO einmal täglich bis Tag 20* nach Behandlung. Kopfschutz zur Minimierung der UV-Lichtexposition des behandelten Auges über 20 Tage* nach der Behandlung
c. Management der Augenentzündung	Nicht zutreffend	0,1 ml Ketorolac-Trometamol 0,5 % (Acular 0,5 %, Allergan, Australia) und 0,1 ml Atropinsulfatmonohydrat (Atropine 1,0 % Augentropfen, Minims, Australia), appliziert über die Augenspülsonde alle 6 Stunden bis zum Abfallen des Tumors (Tag 16)

* Die Standarddauer für diese Behandlungen gemäß Protokoll war bis zum Zeitpunkt des Ablösens des Tumors (in diesem Fall am Tag 16). Der Patient blieb jedoch weiterhin stationär eingestellt, weil der Besitzer im Urlaub war, und die Behandlungen wurden über diese zusätzliche Dauer fortgeführt.

entzündlichen Reaktion an der Behandlungsstelle, ohne potenzielle Beeinträchtigung der therapeutischen Wirksamkeit. Das Behandlungsprotokoll bestand aus sechs Komponenten: (i) stehende Sedierung, (ii) lokale oder regionale Anästhesie, (iii) Bestimmung des Tumorumfanges, (iv) Berechnung der Tigilanoltiglat-Dosis, (v) Verabreichung der errechneten Dosis und (vi) medikamentöse Begleittherapie zur Kontrolle der lokalen akuten

entzündlichen Reaktion (Details siehe **Tabelle 1**). Für Läsionen im Bereich von mukokutanen periorbitalen Geweben nahe am Auge wurden zusätzliche Interventionen in das Protokoll aufgenommen, wie das Legen einer Augenspülsonde für die sichere Applikation okulärer Arzneimittel, mit dem Ziel, das lokale Entzündungsgeschehen zu kontrollieren und die potenzielle Entwicklung einer Uveitis zu verhindern (**Tabelle 1**).

Bei beiden Patienten erfolgte die Behandlung durch die überweisenden Tierärzte nach dem beschriebenen Protokoll unter Anleitung eines Tierarztes von QBiotics. Der Sarkoid-Patient wurde unter Feldbedingungen im Paddock des Pensionsstalls seines Besitzers behandelt. Der Plattenepithelkarzinom-Patient wurde für die Behandlung in die überweisende Pferdeklinik eingestellt und dort anschließend über die ersten 14 Tage bezüglich des Ansprechens auf die Behandlung überwacht (Unterbringung und Überwachung wurden bis Tag 20 fortgesetzt, da der Besitzer im Urlaub war). Nach Sedierung und Lokalanästhesie (falls erforderlich) wurde die berechnete Tigilanoltilgat-Dosis (1 mg/ml in 40 % Propylenglykol) mithilfe einer 1-ml-Luer-Lock-Spritze mit einer 26-G/19-mm-Kanüle mittels intratumoraler „Fächertechnik“ appliziert, um eine maximale Verteilung und Perfusion des Arzneimittels in der gesamten Läsion zu erreichen (siehe Illustration in **Tabelle 1**). Beim Sarkoid-Patienten wurde die gestielte Läsion nach Sedierung mit einem Skalpell exzidiert, sodass die verbleibende Basis des Tumors vermessen werden konnte, um das Tumolvolumen zu bestimmen und den Tumor anschließend entsprechend zu behandeln (**Abbildungen 1B, C**). Details zur Sedierung, Lokalanästhesie, zu dem geschätzten Tumolvolumen, der berechneten Tigilanoltilgat-Dosis und der antiinflammatorischen medikamentösen Begleittherapie sind für beide Patienten in **Tabelle 2** zusammengefasst.

Für die histopathologische Bestätigung der Erkrankung wurden bei beiden Patienten Gewebeproben der Zubildungen entnommen. Beim Plattenepithelkarzinom-Patienten wurde 14 Tage vor der Tigilanoltilgat-Behandlung eine Biopsie durchgeführt, beim Sarkoid-Patienten wurde der unmittelbar vor der Applikation von Tigilanoltilgat exzidierte Stiel histopathologisch untersucht.

Beurteilung des Ansprechens auf die Behandlung

Das Ansprechen auf die Behandlung wurde anhand einer Kombination von klinischen Beobachtungen durch die Tierärzte und die Besitzer beurteilt sowie auf der Grundlage fortlaufender digitaler Fotos der Behandlungsstelle an den Tagen nach der Behandlung. Die klinischen Kriterien waren die Gesundheit und das Verhalten des Patienten insgesamt, das Ausmaß der Entzündung und des Ödems, Hinweise auf lokale Schmerzen und/oder Beschwerden, die Zeit bis zum Abfallen des Tumors, der Zustand und die Größe der daraus resultierenden Wunde und das Fortschreiten der Wundheilung. Im Falle des in der Pferdeklinik eingestellten Plattenepithelkarzinom-Patienten umfasste das detailliertere tägliche Monitoring zusätzlich die Messung der Körpertemperatur, der Pulsfrequenz und der Atemfrequenz sowie die Überwachung der Behandlungsstelle und des Auges auf spezifische Anzeichen eines Hypopyons, einer Uveitis und eines Blepharospasmus. Darüber hinaus wurden beide Patienten während des gesamten Verlaufs der Studie auf Hinweise für die Entwicklung neuer Tumore

an anderen Stellen des Körpers überwacht. Die Behandlung galt als erfolgreich, wenn sich der Tumor vollständig zurückgebildet hatte mit anschließender vollständiger Reepithelisierung, der durch die Tumorzerstörung gebildeten Wunde (Gewebedefekt) an der Behandlungsstelle. Die Nachhaltigkeit des Behandlungserfolgs wird auch weiterhin kontinuierlich alle drei Monate mithilfe digitaler Fotos, tierärztlicher Untersuchungen und Berichten der Pferdebesitzer überwacht.

ERGEBNISSE

Nach der Behandlung folgten die Tumore bei beiden Pferden einem klinischen Ansprechmuster, das dem entspricht, welches auch bei anderen Spezies und bei anderen Tumorarten wie kaninen Mastzelltumoren (1, 3), verschiedenen humanen Neoplasien (4) und murinen Tumoren (2, 5) nach einer Behandlung mit Tigilanoltilgat beschrieben wird. Diese klinische Antwort ist direkt auf den Wirkungsmechanismus von Tigilanoltilgat bei der Tumorzerstörung zurückzuführen und umfasst die Bildung eines lokalen Hämatoms und die lokale Entwicklung einer Entzündung/eines Ödems an der Behandlungsstelle innerhalb der ersten 24 Stunden, gefolgt von einer hämorrhagischen Nekrose der Tumormasse und schließlich dem Abfallen des nekrotischen Tumors unter Bildung einer Wunde an der Behandlungsstelle, die in der Regel komplikationslos auf dem Wege der sekundären Wundheilung abheilt, meist ohne Notwendigkeit einer Abdeckung durch einen Verband oder andere Maßnahmen (1).

Fibroblastisches Sarkoid

Der Verlauf der klinischen Antwort des fibroblastischen Sarkoids nach Behandlung mit Tigilanoltilgat ist in **Abbildung 1** dargestellt. Deutlich zu erkennen waren ein Hämatom, ein geringgradiges Ödem und eine hämorrhagische Nekrose der Läsion innerhalb von 24 Stunden nach der Behandlung (**Abbildung 1D**), gefolgt vom Abfallen der nekrotischen Sarkoidmasse an Tag 6 (**Abbildung 1E**). An Tag 15 war die Heilung der Behandlungsstelle gut fortgeschritten (**Abbildung 1F**) mit vollständiger Reepithelisierung innerhalb von 36 Tagen nach der Behandlung (**Abbildung 1G und 1H**). Bei der Kontrolluntersuchung 93 Tage nach der Behandlung wurden keine Hinweise auf ein Rezidiv des Sarkoids gefunden (**Abbildung 1I**), und auch an anderen Stellen des Körpers hatten sich während dieser Periode keine neuen Sarkoide entwickelt. Außer Beschwerden an der Behandlungsstelle, einer geringgradigen Lethargie und reduzierter Futteraufnahme über die ersten 36 Stunden nach der Behandlung wurden vom überweisenden Tierarzt oder vom Besitzer keine weiteren Anzeichen von Veränderungen des Verhaltens des Patienten festgestellt.

Periokuläres/mukokutanes Plattenepithelkarzinom

Der Verlauf der klinischen Antwort des periokulären Plattenepithelkarzinoms nach der Behandlung mit Tigilanoliglat ist in **Abbildung 2–4** dargestellt.

Abbildung 2A zeigt das Plattenepithelkarzinom vor der Behandlung. **Abbildung 2B** zeigt einen histologischen Schnitt der zwei Wochen vor der Behandlung entnommenen Biopsieprobe mit Bestätigung der histopathologischen Diagnose eines Plattenepithelkarzinoms. Innerhalb von 24 Stunden nach der Behandlung waren eine Schwellung und eine Entzündung an der Behandlungsstelle und in ihrer unmittelbaren Umgebung deutlich zu erkennen (**Abbildung 2C und 2D**). Zu beachten ist auch die in **Abbildung 2C** zu erkennende Lage der Augenspülsonde im oberen Augenlid. Eine hämorrhagische Nekrose der Tumormasse war nach drei Tagen zu beobachten und wurde von einem Exsudatausfluss begleitet (**Abbildung 2E**). An Tag 4 war ein klar umschriebenes, schwarz verfärbtes Areal mit Schorfbildung noch deutlicher zu erkennen (**Abbildung 2F**).

Eine weitergehende Demarkation der nekrotischen Tumormasse entwickelte sich im Verlauf der folgenden vier Tage (**Abbildung 3A**, Tag 8). An Tag 16 kam es nach leichter Sedierung und geringem manuellem Druck auf die Schorfstelle zu einem vollständigen Abfallen der Zubildung (**Abbildung 3B und 3C**). Über die folgenden drei Tage füllte sich die exponierte Wunde schnell mit Granulationsgewebe, und an Tag 19 hatte sich die Ausdehnung der Wunde (**Abbildung 3D und 3E**) im Vergleich zu Tag 16 (**Abbildung 3C**) weiter reduziert. Während dieser Periode wurden die okuläre und die orale Behandlung mit NSAIDs fortgesetzt, zusammen mit der Gabe von Atropin-Augentropfen. Die Untersuchung an Tag 19 zeigte, dass das Auge physiologisch und klinisch unauffällig war und eine gut dilatierte Pupille aufwies (**Abbildung 3D**). Nach dem Abfallen der nekrotischen Tumormasse war ein kleiner keilförmiger Defekt des funktionellen unteren Augenlids nahe dem medialen Kanthus zu erkennen, der aber keine Einschränkung des Lidschlusses zur Folge hatte. Am folgenden Tag wurde der Patient aus der Klinik entlassen, und der überweisende Tierarzt musste keine weitere medikamentöse Behandlung durchführen. Der Besitzer wurde jedoch gebeten, den Patienten weiterhin zu überwachen und seinen Tierarzt unmittelbar zu kontaktieren, sobald Hinweise auf offensichtliche Schmerzen zu erkennen waren, wie zum Beispiel das Zukneifen des Auges, aber auch Anzeichen wie übermäßige Lakrimation oder Blepharospasmus, die auf die Entwicklung einer Uveitis oder eines Hornhautulkus hindeuten könnten. Bei einer routinemäßigen Kontrolluntersuchung sieben Tage nach der Entlassung aus der Klinik zeigte das Auge nach wie vor keine abnormen Befunde, und das Ausmaß der Wunde hatte sich weiter reduziert (**Abbildung 3F**, Tag 27). Bis zu Tag 73 wurde keine weitere tierärztliche

Kontrolluntersuchung durchgeführt. Während dieser Zeit ist die Behandlungsstelle vollständig abgeheilt (**Abbildung 4A und 4B**). Bei einer etwa sechs Monate nach der Behandlung (Tag 189) anberaumten routinemäßigen Kontrolluntersuchung wurden keine Hinweise auf ein Rezidiv festgestellt, und das Auge zeigte eine vollständige Funktionalität (**Abbildung 4C**). Zu diesem Zeitpunkt gab es keine Hinweise auf Metastasen, weder lokal noch an weiter entfernt gelegenen Stellen des Körpers.

Außer einer reduzierten Futteraufnahme über die ersten 48 Stunden und Beschwerden an der Behandlungsstelle im Zusammenhang mit der entzündlichen Reaktion während der ersten sieben Tage zeigte der Patient keine weiteren unmittelbar mit der Behandlung zusammenhängenden klinischen Nebenwirkungen oder Verhaltensprobleme. Weitere Maßnahmen bis zur Entlassung des Patienten 20 Tage nach der Behandlung waren das regelmäßige tägliche Reinigen des Areals rund um den nekrotisierenden Tumor mit Mullkompressen, die in physiologischer Kochsalzlösung getränkt waren, das Anlegen eines Kopfschutzes zur Minimierung der Lichtexposition des behandelten Auges und die regelmäßige Gabe von Augenmedikamenten. Die Ziele dieser zusätzlichen Maßnahmen waren eine Linderung von Beschwerden im Zusammenhang mit dem initialen Gewebeverlust am medialen Kanthus und dem damit verbundenen Verlust der Funktionalität des Augenlids sowie die Verhinderung der potenziellen Entwicklung einer Uveitis (auch wenn die Wahrscheinlichkeit der Entstehung einer Uveitis nach 16 Tagen als eher gering angesehen wurde).

DISKUSSION

In dieser ersten Studie konnten wir zeigen, dass ein pferdespezifisches Behandlungsprotokoll auf Basis einer reduzierten intratumoralen Tigilanoliglat-Dosis und einer antiinflammatorischen medikamentösen Begleittherapie zu einer vollständigen Resolution (i) eines fibroblastischen Sarkoids, das nach einer vier Monate zuvor durchgeführten chirurgischen Exzision rezidiert hatte, und (ii) eines schnell wachsenden periokulären Plattenepithelkarzinoms mit guten kosmetischen und funktionellen Heilungsergebnissen an der Behandlungsstelle führte.

Unser primäres Anliegen bei der Entwicklung dieses Protokolls war die Berücksichtigung der Problematik, dass Pferde wahrscheinlich empfindlicher auf die durch Tigilanoliglat induzierte akute Entzündung an der Behandlungsstelle reagieren als andere getestete Spezies. Diese über Zytokin- und Chemokin-Signalwege vermittelte entzündliche Reaktion ist ein zentraler Bestandteil des multifaktoriellen Wirkungsmechanismus dieses Arzneimittels und bewirkt eine Abgrenzung der Tumormasse (12) und eine Stimulation der Rekrutierung von Immunzellen

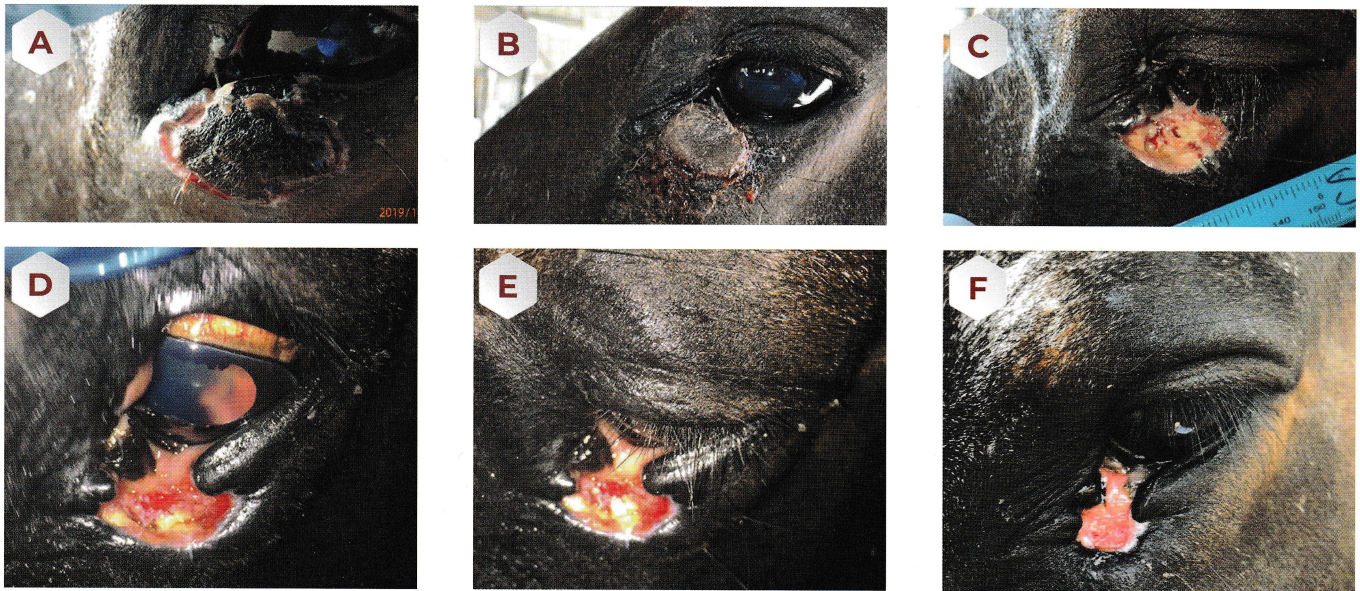


Abbildung 3

Verlauf der klinischen Antwort eines periokulären Plattenepithelkarzinoms nach Behandlung mit Tigilanol tiglat. (A, B) Deutliche Demarkation der nekrotischen Tumormasse an Tag 8 und an Tag 16; (C) Darunter liegendes Wundbett, exponiert nach leichtem manuellem Druck auf den Schorf an Tag 16; (D, E) Die Augenuntersuchung an Tag 19 zeigt ein normales Auge mit gut dilatierter Pupille; (F) In Heilung befindliche Behandlungsstelle an Tag 27.



Abbildung 4

Verlauf der klinischen Antwort eines periokulären Plattenepithelkarzinoms nach Behandlung mit Tigilanol tiglat. Geheilte Behandlungsstelle an Tag 73 (A, B) und an Tag 189 (C), ohne Hinweise auf ein Tumorrezidiv.

(5). Wenn diese entzündliche Reaktion übermäßig stark ausgeprägt ist oder länger persistiert, als dies für die Wirkung des Arzneimittels erforderlich ist, kann das Entzündungsgeschehen potenziell ausgedehntere lokale Ödeme hervorrufen und zur Bildung umfangreicherer Wunden an der Behandlungsstelle nach dem Abfallen des Tumors führen. Die hier beschriebenen Ergebnisse zeigen, dass unser pferdespezifisches Protokoll in diesen beiden initialen Fällen eine wirksame Kontrolle der arzneimittelinduzierten entzündlichen Reaktion an der Behandlungsstelle und der daraus resultierenden Größe der Wunde erreichte. Diese Wirkung ist auf eine Kombination der folgenden Punkte zurückzuführen:

- i. Eine um 30 % niedrigere intratumorale Dosierungsrate ($0,35 \text{ mg/cm}^3$ Tumolvolumen), verglichen mit der für eine wirksame Behandlung kaniner Mastzelltumore (1, 3) und einer Reihe von Neoplasien bei Menschen (4) erforderlichen Dosierungsrate.
- ii. Eine Begleittherapie mit nichtsteroidalen Antiphlogistika (NSAIDs) am Tag der Behandlung und an den darauffolgenden Tagen.

Bezüglich der Dosierungsrate ist interessant, dass trotz der um 30 % niedrigeren Tigilanol tiglat-Dosis pro Einheit des Tumolvolumens das Fortschreiten und der zeitliche Ablauf der auf dem Wirkungsmechanismus von Tigilanol tiglat beruhenden kritischen klinischen Ereignisse der Tumorzerstörung und der anschließenden Wundheilung (Einleitung der akuten entzündlichen Reaktion, hämorrhagische Nekrose des Tumors und Abfallen des Tumors) bei diesen beiden equinen Patienten sehr ähnlich waren wie in den bereits beschriebenen Behandlungen von Tumoren bei Hunden und Menschen (1, 4). Diese Beobachtung deckt sich mit der Erkenntnis, dass Pferde im Vergleich zu Hunden und Menschen eine höhere Sensitivität gegenüber entzündlichen Reizen haben und offensichtlich niedrigere Schwellenwerte aufweisen für die Aktivierung von wichtigen proinflammatorischen Mediatoren (wie IL-1 α und TNF- α), die durch Tigilanol tiglat induziert werden und an der frühen Induzierung und Amplifizierung von Akute-Phase-Reaktionen beteiligt sind (10, 11). Darüber hinaus liefern diese Ergebnisse initiale Evidenzen für die Annahme, dass transiente proinflammatorische Signalkaskaden, die von Tigilanol tiglat induziert werden und zu seiner

Wirkung beitragen, bei Pferden bereits mit niedrigeren intratumoralen Konzentrationen des Arzneimittels erreicht werden als bei Hunden und Menschen.

Die antiinflammatorische Begleittherapie war wahrscheinlich ebenfalls eine wichtige Komponente in diesem Protokoll für (a) die wirksame Kontrolle der Ausbreitung der entzündlichen Reaktion und der Ödembildung über die Behandlungsstelle und ihre unmittelbare Umgebung hinaus sowie für (b) die Unterstützung eines schnelleren Abklingens der arzneimittelinduzierten initialen akuten proinflammatorischen Signalkaskade. Beide Aspekte trugen zudem wahrscheinlich zu einer Begrenzung der Ausdehnung der sich nach dem Ablösen des Tumors bildenden Wunde bei. Im Fall des periokulären Plattenepithelkarzinoms erwiesen sich die zusätzlichen Maßnahmen zur Kontrolle der lokalen entzündlichen Reaktion, wie z. B. das Legen der Augenbehandlungs-sonde, als besonders wichtig, und zwar nicht nur für die Kontrolle der Ausdehnung der Wunde, sondern auch zur Schmerzlinderung in dieser empfindlichen Region und zur Senkung des signifikanten Risikos der Entwicklung einer Uveitis und eines potenziellen vollständigen Verlusts der Funktion des Auges. Wahrscheinlich ist, dass in diesem Fall der Behandlungserfolg, also die Zerstörung des Tumors und der lediglich sehr geringe Gewebedefekt sowie die nicht beeinträchtigte Funktion des Auges, zu einem großen Teil auf diese spezifischen zusätzlichen Elemente des Behandlungsregimes zurückzuführen ist.

Signifikante Nebenwirkungen wurden nach den Tigilanoltiglat-Behandlungen weder von den behandelnden Tierärzten noch von den Pferdebesitzern beobachtet. Die nach dem Ablösen des Tumors an der Behandlungsstelle entstehenden Wunden heilten ohne spezifische Interventionen komplikationslos sekundär ab. Beide Patienten zeigten eine geringgradige Lethargie während der ersten 36 Stunden nach der Behandlung sowie erkennbare Beschwerden an der Behandlungsstelle über die ersten 3 bis 5 Tage, die mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit mit der arzneimittelinduzierten lokalen entzündlichen Reaktion zusammenhängen.

Insgesamt konnten wir mit dem in dieser Studie beschriebenen pferdespezifischen Protokoll zeigen, dass eine intratumorale Dosis von Tigilanoltiglat zu einer vollständigen Resolution des Zieltumors führte, gefolgt von einer vollständigen Reepithelisierung der Behandlungsstelle. Beide Patienten werden auch weiterhin kontinuierlich überwacht. Das Ausbleiben von Rezidiven eines aggressiven fibroblastischen Sarkoids auch drei Monate

nach der Behandlung sowie eines schnell wachsenden periokulären Plattenepithelkarzinoms auch sechs Monate nach der Behandlung ist jedoch eine ermutigende Beobachtung und weist auf ein wahrscheinlich lang anhaltendes und nachhaltiges Ansprechen auf diese Behandlung hin.

Klar ist, dass die Aussagekraft der Untersuchungen bezüglich der klinischen Signifikanz und der klinischen Anwendung dieser Ergebnisse begrenzt ist, da an dieser ersten Studie nur zwei Pferde teilnahmen. Weitere klinische Studien auf der Basis des pferdespezifischen Protokolls sind für die nahe Zukunft geplant und haben zum Ziel, (a) die Dosierungs- und Applikationsstrategien zu verfeinern und (b) die klinische Wirksamkeit und Sicherheit von Tigilanoltiglat in einer statistisch relevanten, repräsentativen equinen Patientenpopulation zu etablieren. Diese geplanten klinischen Studien werden ein besseres Verständnis der potenziellen Anwendung dieses Arzneimittels bei Pferden fördern und darüber hinaus die zukünftige Entwicklung dieses Wirkstoffs als eine sichere und wirksame Behandlungsoption für Hauttumore bei Pferden zusätzlich stärken.

