

Aus der Urologischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. C. G. Stief

**Tierexperimentelle Untersuchungen zur photodynamischen Therapie des  
Prostatakarzinoms mit 5-Aminolävulinsäure induziertem Protoporphyrin IX  
an einem Ratten-Tumor-Modell**

**Dissertation**

**zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

**vorgelegt von**

**Michael Johannes Höppner**

**aus**

**Ludwigshafen**

**2005**

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München**

**Berichterstatter: PD. Dr. med. D. Zaak**

**Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. A. Schilling  
PD Dr. med. I. Bittmann**

**Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter Dr. rer. biol. hum. Ronald Sroka**

**Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt**

**Tag der mündlichen  
Prüfung: 27.10.2005**

Meinen Eltern in Liebe und Dankbarkeit gewidmet

## **Danksagung:**

Nur durch die Unterstützung einiger Personen war es möglich, die hier vorliegende Dissertationsschrift zu einem guten Abschluss zu bringen. Herzlich bedanken möchte ich mich an dieser Stelle bei allen Personen, die zu der Erstellung dieser Dissertation beigetragen haben. Insbesondere gilt mein Dank folgenden Personen:

Zunächst möchte ich meinen besonderen Dank meinem Doktorvater, Herrn Privatdozent Dr. med. Dirk Zaak, für die freundliche Überlassung des Themas sowie für die persönliche Betreuung, menschliche Unterstützung und die vielfältigen Anregungen aussprechen. Durch seinen Einsatz während der Erstellung dieser Dissertation wurde mein Interesse an der wissenschaftlichen Tätigkeit geweckt.

In gleicher Weise gebührt der Dank Herrn Dr. rer. biol. hum. Ronald Sroka für die ebenfalls persönliche Betreuung, für die umfangreichen technischen und physikalischen Hilfestellungen während der Durchführung der Versuche sowie für die statistische Auswertung der Experimente. Durch seine Anregungen war es häufig möglich, größere Probleme erfolgreich zu lösen.

Des Weiteren möchte ich mich bei den anderen Mitarbeitern des Laserforschungslabors bedanken, insbesondere bei Frau Dr. Susanne Stocker für die Hilfe bei der Betreuung der Versuchstiere sowie bei Herrn Dr. Herbert Stepp und Herrn Dr. Reinhold Baumgartner.

Zudem möchte ich Frau Prof. Dr. med. Ruth Knüchel, ehemals leitende Oberärztin am Institut für Pathologie der Universität Regensburg, für ihre tatkräftige Unterstützung, die unkomplizierte Zusammenarbeit und ihr Engagement bei der histologischen Auswertung bedanken. Nur durch ihren Einsatz konnte eine Auswertung der Ergebnisse durchgeführt werden.

Schließlich möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Alfons Hofstetter, ehemaliger Ordinarius an der Klinik und Poliklinik für Urologie der LMU München, sowie seinem Nachfolger, Herrn Prof. Dr. med. C. G. Stief, für die Erlaubnis, meine Dissertation an Ihrer Klinik durchführen zu können, bedanken.

# Inhaltsverzeichnis

|              |   |           |
|--------------|---|-----------|
| <b>1</b>     | <b><u>Einleitung</u></b>  | <b>1</b>  |
| <b>1.1</b>   | <b>Einführung in die Problematik</b>                            | <b>1</b>  |
| <b>1.1.1</b> | <b>Prostatakarzinom (PCA)</b>                                   | <b>1</b>  |
| 1.1.1.1      | Diagnose eines Prostatakarzinoms                                | 1         |
| 1.1.1.2      | Histologische Formen der Prostatakarzinome, Gleason-Score       | 4         |
| 1.1.1.3      | Stadieneinteilung des Prostatakarzinoms                         | 5         |
| <b>1.1.2</b> | <b>Therapie des Prostatakarzinoms (PCA)</b>                     | <b>7</b>  |
| 1.1.2.1      | Radikale Prostatovesikulektomie                                 | 7         |
| 1.1.2.2      | Strahlentherapie  | 8         |
| 1.1.2.3      | Prognose  | 9         |
| 1.1.2.4      | Watchful waiting  | 10        |
| 1.1.2.5      | Alternative Therapieformen                                      | 10        |
| <b>1.1.3</b> | <b>Photodynamische Therapie</b>                                 | <b>13</b> |
| 1.1.3.1      | Prinzip der Photodynamischen Therapie                           | 13        |
| 1.1.3.2      | Historische Entwicklung der Photodynamischen Therapie           | 13        |
| 1.1.3.3      | Physikalische Grundlagen der Photodynamischen Therapie          | 15        |
| 1.1.3.4      | Biochemische Grundlagen der Photodynamischen Oxidationsprozesse | 17        |
| 1.1.3.5      | 5-Aminolävulinsäure (5-ALA) und Hämbiosynthese                  | 18        |
| 1.1.3.6      | Photodynamische Therapie des Prostatakarzinoms                  | 22        |
| <b>1.2</b>   | <b>Fragestellung</b>  | <b>23</b> |
| <b>2</b>     | <b><u>Material und Methodik</u></b>                             | <b>24</b> |
| <b>2.1</b>   | <b>In vivo Tumormodell</b>                                      | <b>24</b> |
| 2.1.1        | Dunning Tumor, Zellreihen                                       | 24        |
| 2.1.2        | Tumorzellinjektion  | 26        |
| 2.1.3        | 5-Aminolävulinsäure   | 26        |

|            |  |           |
|------------|--|-----------|
| 2.1.4      | Zeitpunkt der Tumorresektion                                 | 26        |
| <b>2.2</b> | <b>Pharmakokinetik</b>                                       | <b>28</b> |
| 2.2.1      | Versuchsaufbau   | 28        |
| 2.2.2      | Versuchsdurchführung der pharmakokinetischen Untersuchungen  | 29        |
| <b>2.3</b> | <b>Lokalisationsdiagnostik</b>                               | <b>31</b> |
| 2.3.1      | Versuchsdurchführung der Lokalisationsdiagnostik             | 31        |
| <b>2.4</b> | <b>Photodynamische Therapie</b>                              | <b>32</b> |
| 2.4.1      | Versuchsaufbau   | 32        |
| 2.4.2      | Versuchsdurchführung der photodynamischen Therapie           | 34        |
| <b>2.5</b> | <b>Bleachingmessungen</b>                                    | <b>36</b> |
| 2.5.1      | Versuchsaufbau   | 36        |
| 2.5.2      | Versuchsdurchführung   | 36        |
| <b>2.6</b> | <b>Histologische Auswertung</b>                              | <b>37</b> |
| 2.6.1      | Durchführung der histologischen Auswertung                   | 37        |
| <b>2.7</b> | <b>Statistik und Fehlerabschätzung</b>                       | <b>39</b> |
| <b>3</b>   | <b><u>Ergebnisse</u></b>                                     | <b>40</b> |
| <b>3.1</b> | <b>Pharmakokinetik</b>                                       | <b>40</b> |
| <b>3.2</b> | <b>Lokalisationsdiagnostik</b>                               | <b>42</b> |
| <b>3.3</b> | <b>Photodynamische Therapie und histologische Auswertung</b> | <b>44</b> |
| <b>3.4</b> | <b>Bleachingmessungen</b>                                    | <b>51</b> |
| <b>4</b>   | <b><u>Diskussion</u></b>                                     | <b>53</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Pharmakokinetik</b>                                       | <b>56</b> |
| <b>4.2</b> | <b>Lokalisationsdiagnostik</b>                               | <b>58</b> |
| <b>4.3</b> | <b>Photodynamische Therapie</b>                              | <b>60</b> |

|            |  |                  |
|------------|--|------------------|
| <b>4.4</b> | <b>Klinischer Ausblick</b>                     | <b>64</b>        |
| <b>5</b>   | <b><u>Zusammenfassung</u></b>                  | <b><u>65</u></b> |
| <b>6</b>   | <b><u>Literaturverzeichnis</u></b>             | <b><u>68</u></b> |
| <b>7</b>   | <b><u>Lebenslauf</u></b>                       | <b><u>93</u></b> |
| <b>8</b>   | <b><u>Anhang</u></b>                           | <b><u>95</u></b> |
| <b>8.1</b> | <b>Materialliste und Bezugsquellennachweis</b> | <b>95</b>        |
| 8.1.1      | Versuchstiere                                  | 95               |
| 8.1.2      | Tumorzellinjektion                             | 95               |
| 8.1.3      | Pharmakokinetische Untersuchungen              | 96               |
| 8.1.4      | Lokalisationsdiagnostik                        | 97               |
| 8.1.5      | Photodynamische Therapie                       | 98               |
| 8.1.6      | Sonstige Materialien                           | 98               |
| <b>8.2</b> | <b>Abkürzungsverzeichnis</b>                   | <b>100</b>       |

## 1. Einleitung

### 1.1 Einführung in die Problematik

#### 1.1.1 Prostatakarzinom (PCA)

Seit Einführung des PSA-Wertes zur Früherkennung der bösartigen Vergrößerung der Vorsteherdrüse (Prostata) ist die Inzidenz des Prostatakarzinoms (PCA) angestiegen. Erkrankten im Zeitraum 1987-1989 im Stadtgebiet München noch 50,5 Männer/100.000 Einwohner an einem Prostatakarzinom, so waren dies von 1996-1998 100,9/100.000. Demgegenüber hat sich die Mortalität in diesen Zeiträumen nicht verändert und betrug je 100.000 Einwohner 30,3 (1987-1989) bzw. 30,6 (1996-1998) [Tumorregister München 2000].

Bedingt durch die sensitivere Diagnostik stellt mittlerweile das PCA die häufigste maligne Tumorerkrankung des Mannes, die zweithäufigste krebsbedingte Todesursache in Deutschland und somit die häufigste Todesursache unter allen urologischen Krebserkrankungen dar. In Deutschland erkrankten im Jahre 2004 ca. 40.600 Männer an einem PCA und etwa ein Viertel verstarb an diesem Tumor [Arbeitsgemeinschaft Bevölkerungsbezogener Krebsregister in Deutschland 2004].

Durch den Fortschritt in der Früherkennung des Karzinoms ist vor allem eine Zunahme der organ- und lokalbegrenzten Stadien des PCA zu verzeichnen [Breul et al. 2001, Jhaveri et al. 1999]. Zeitgleich sank das Durchschnittsalter der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung.

##### 1.1.1.1 Diagnostik eines Prostatakarzinoms

Zur grundlegenden Diagnostik bei Verdacht auf das Vorliegen eines PCA gehören die digital rektale Untersuchung (DRU) und die Bestimmung des PSA-Wertes [Leitlinien der DGU, 2002]. Bei der DRU wird die Prostata vom Rektum aus digital abgetastet und sowohl die Größe der Drüse als auch die Oberflächenbeschaffenheit und Konsistenz untersucht. Diese Methode ist jedoch sehr von der Erfahrung des

Untersuchers abhängig und weist somit eine hohe Subjektivität auf. Die Spezifität der Methode liegt zwischen 21 und 51% [Babayan et al. 1993; Catalona et al. 1994].

Bei suspektem Tastbefund kann die Prostata sonographisch mittels des Transrektalen Ultraschalls (TRUS) abgeklärt werden. Werden dabei Bezirke mit verminderter Echogenität in der Peripherie entdeckt, so sind diese hinweisend für ein Prostatakarzinom. Die Sensitivität des TRUS ist hoch, jedoch ist er aufgrund seiner Untersucher- und Geräteabhängigkeit mit einer zu geringen Spezifität behaftet und somit zur Diagnosestellung ein eher ungeeignetes Mittel [Leitlinie der DGU 2002, Paul et al. 1995, Ahllhoff et al. 1993].

Als wichtigstes Diagnostikum gilt seit seiner Einführung die Bestimmung des prostataspezifischen Antigens (PSA) im Blutserum. Dieses ist eine Glykoprotein-Serin-Protease, die in den Drüsen der Prostata gebildet wird und zur Verflüssigung des Ejakulates dient. Bei dem PSA-Wert handelt es sich jedoch nicht um einen karzinomspezifischen, sondern um einen gewebespezifischen Marker der Prostata. So kann der PSA-Wert auch bei einem Benignen Prostatasyndrom (BPS) oder bei einer Prostatitis erhöht sein. So gehen ca. 70 % der Prostatakarzinome mit PSA-Werten  $> 4 \text{ ng/ml}$  einher. Allerdings weisen auch viele Patienten mit einer gutartigen Vergrößerung der Prostata (BPS) PSA-Werte  $> 4 \text{ ng/ml}$  auf.

Zur Optimierung dieser Messmethode wurden deshalb verschiedene Verfahren eingesetzt. So wurden zur Steigerung der Sensitivität und Spezifität z.B. altersabhängige Normgrenzen eingeführt, um höheren PSA-Werten bei älteren Menschen gerecht zu werden. Diese konnten jedoch nach Auswertung großer Serien die Sensitivität und Spezifität nicht verbessern [Crawford et al. 1999, Dalkin et al. 1995].

Um vor allem im Graubereich bei PSA-Werten innerhalb  $4\text{-}10 \text{ ng/ml}$  zwischen einem Prostatakarzinom und dem benignen Prostatasyndrom (BPS) zu unterscheiden, scheint eine Bestimmung der PSA-Isoformen sinnvoll zu sein. Hierfür sollte sowohl das freie als auch das an alpha1-Antichymotrypsin gebundene (komplexierte) PSA bestimmt werden, um danach die verschiedenen PSA-Quotienten durch Bestimmung der prozentualen Anteile sowohl des freien als auch des komplexierten PSA im Blut zu bestimmen [Hammerer et al. 2004]. Beträgt der Anteil des freien PSA am Gesamt-PSA 10 % (0,10) oder weniger, so spricht dies eher für ein PCA, während

bei einer gutartigen Vergrößerung dieser über 25 % (0,25) liegt [Catalona et al 1999, Riccardo et al. 1997]. Hierbei konnte die Sensitivität der PSA-Bestimmung durch den Quotienten aus freiem PSA zu Gesamt-PSA auf 95% erhöht werden. Die Bestimmung des komplexierten PSA konnte ebenfalls die Sensitivität der PSA-Untersuchung auf 95% verbessern [Sokoll et al. 2002].

Weitere Möglichkeiten, die zur Optimierung des PSA-Screenings dienen, sind die Bestimmung der PSA-Dichte und PSA-Anstiegsgeschwindigkeit. Mittels eines durchgeführten TRUS bei gleichzeitig bestimmtem PSA-Wert kann die PSA-Dichte bestimmt werden. Dabei wird die PSA-Konzentration im Serum durch das im TRUS festgestellte Prostatavolumen dividiert. Werte  $> 0,15$  sollen dabei eher auf eine bösartige Vergrößerung der Prostata hinweisen [Leitlinie der DGU 2002, Boulos et al. 2001, Djavan et al. 1999, Benson et al. 1992].

Im Verlauf der jährlichen Bestimmung des PSA-Wertes bei Vorsorgeuntersuchungen kann man zudem die Geschwindigkeit eines PSA-Anstiegs bestimmen. Dabei gilt ein Anstieg  $> 0,75 \text{ ng/ml}$  innerhalb eines Jahres als hinweisend für ein Prostatakarzinom [Sokoloff et al. 2004, Leitlinie der DGU 2002, Djavan et al. 1999, Carter et al. 1992]. Bei PSA-Werten  $> 10 \text{ ng/ml}$  ist die Sensitivität der PSA-Bestimmung mit 33-50% höher [Leitlinie der DGU 2002]. Diese Werte weisen eher auf ein Prostatakarzinom hin. Durch die Bestimmung des PSA-Wertes können viele Tumoren schon in einem frühen, kurativen Stadium entdeckt werden, und daher einer kurativen Therapie zugeführt werden.

Der positive Vorhersagewert für ein PCA bei einer positiven DRU allein beträgt, wie oben beschrieben, nur etwa 18 % [Leitlinie der DGU 2002]; kombiniert man diese mit dem PSA-Wert kann der Vorhersagewert gesteigert werden. Bei positivem Tastbefund und PSA-Werten im Graubereich liegt die Spezifität der Untersuchung schon bei 40,8%, bei PSA-Werten  $> 10 \text{ ng/ml}$  sogar bei 69,1% [Catalona et al. 1994].

Wird die Verdachtsdiagnose eines Prostatakarzinoms ausgesprochen, sollte diese im nächsten Diagnoseschritt durch eine Prostatastanzbiopsie gesichert werden. Dabei wird das Gewebe der Prostata als Stanzzyylinder von rektal oder von transperineal gewonnen und die Gewebeproben histologisch untersucht. Durch die Biopsie kann bei einem Karzinomverdacht die Gesamtrate der entdeckten Prostatakarzinome bis zu 76 % betragen [Catalona et al. 1995].

### 1.1.1.2 Histologische Formen der Prostatakarzinome, Gleason-Score

In 98% der Fälle entstehen die Prostatatumoren in dem Drüsenepithel der Vorsteherdrüse. Dabei werden am häufigsten Adenokarzinome (95%), selten Plattenepithelkarzinome oder so genannte Übergangsepithelkarzinome (Transitionalzellkarzinome) diagnostiziert. Ebenso selten sind die stromalen, nicht epithelialen Sarkome, die etwa 2% der Tumoren der Prostata ausmachen, wie Rhabdo- oder Leiomyosarkom. Diese Formen sind außerordentlich aggressiv und schwer zu behandeln [Dhom et al. 1991, Mostofi et al. 1980].

Um die Differenzierungsgrade der Adenokarzinome einzuteilen gibt es verschiedene Klassifikationen. Neben dem Grading nach WHO und dem Grading nach pathologisch-urologischem Arbeitskreis PCA hat sich die Unterteilung mittels des Gleason-Scores als geläufigstes Grading-System durchgesetzt.

Das Grading nach WHO unterscheidet zum einen nach drüsiger Differenzierung zum anderen nach der Kernaplasie, jeweils zwischen den Stadien G1-G3. Der ungünstigste Grad aus drüsiger Differenzierung und Kernaplasie ergibt den endgültigen Differenzierungsgrad des PCA [Mostofi et al 1980].

Das Grading nach Pathologisch-Urologischem Arbeitskreis PCA [Helpap et al. 1985] berücksichtigt neben dem histologischen Grading auch ein zytologisches Grading. Beim histologischen Grading wird sowohl die histologische Differenzierung mit einer Punkteskala von 0-3 (drüsig hoch- und wenig differenziert, kribriform, solide) als auch Kernatypien mit einer Punkteskala von 0-2 (gering, mäßig, stark) berücksichtigt. Das zytologische Grading berücksichtigt vor allem die Zellaplasie mit Bewertungsziffern von 1-3 (gering, mäßig, stark) für sechs verschiedene Kriterien. Die Summe der Bewertungsziffern gelangt zu den Malignitätsgraden G I a, b; G II a, b; G III a, b. Diese Graduierung hat sich zur Prädiktion der Prognose als bedeutsam erwiesen, wobei die Malignitätsgrade G I und G II a als prognostisch günstig, die Malignitätsgrade G II b und G III als prognostisch ungünstig zu bewerten sind.

Das Grading-System nach Gleason [Gleason et al. 1992] berücksichtigt, im Gegensatz zu dem WHO-Grading und dem Grading nach Pathologisch-Urologischem Arbeitskreis PCA, nur die Differenzierung des Karzinoms, nicht jedoch zytologische Malignitätskriterien. Hierbei werden fünf Grade, die durch die glanduläre Morphologie festgesetzt werden, unterschieden. Dabei wird der Morphologie ein

Wert zwischen 1 (= hoch differenziert = niedrig aggressiv) und 5 (= schlecht differenziert = hoch aggressiv) zugeordnet. Bei der histologischen Befundung werden die vorkommenden Drüsenformen mit dieser Einteilung bewertet. Der Gleason-Score entspricht der Summe aus der größten und zweitgrößten Komponente dieser morphologischen Werte und reicht somit von 2 bis 10, wobei 2 den am höchsten differenzierten und 10 den anaplastischsten Tumor repräsentiert. Sind mehr als zwei unterschiedliche Anteile vorhanden, wird anstatt der zweithäufigsten Komponente die ungünstigste Differenzierung zur häufigsten Komponente addiert. Da das Gleason-System sehr gut mit dem biologischen und klinischen Verhalten des Karzinoms korreliert, hat es sich zu einem weltweit verbreiteten Grading-System für das Prostatakarzinom entwickelt.

#### 1.1.1.3 Stadieneinteilung des Prostatakarzinoms

Um eine Prognose über das Prostatakarzinom abgeben zu können, dadurch die therapeutischen Möglichkeiten und Risiken abzuschätzen und die Wahl der Therapie treffen zu können wird das Prostatakarzinom in verschiedene Stadieneinteilungen gegliedert, die sich zum Teil überschneiden. Am geläufigsten ist die Stadieneinteilung nach AJCC oder die TNM-Klassifikation [UICC 2002]. Einen Überblick über die Stadieneinteilung des Prostatakarzinoms in der TNM-Klassifikation von 2002 gibt folgende Tabelle.

| <u>Stadium</u><br>(nach AJCC) | <u>Bezeichnung</u><br><u>im TNM</u> | <u>Beschreibung</u>   |
|-------------------------------|-------------------------------------|---|
| <b>I</b>                      | <b>T 1</b>                          | <b>Inzidentelles Prostatakarzinom</b>   |
|                               | T1 a                                | Tumor zufälliger histologischer Befund in 5% oder weniger des gewonnenen Gewebes  |
|                               | T1 b                                | Tumor zufälliger histologischer Befund in mehr als 5% des gewonnenen Gewebes  |
|                               | T1 c                                | Tumor wurde stanzbiotisch in einem oder beiden Lappen gesichert, ist aber nicht tastbar oder durch Bildgebung zu erkennen |
| <b>II</b>                     | <b>T 2</b>                          | <b>Organbegrenzttes Prostatakarzinom</b>  |
|                               | T2 a                                | Tumor befällt die Hälfte eines Lappens oder weniger   |
|                               | T2 b                                | Tumor befällt mehr als die Hälfte eines Lappens aber nicht beide Lappen   |
|                               | T2 c                                | Tumor befällt beide Lappen  |
| <b>III</b>                    | <b>T 3</b>                          | <b>Lokal fortgeschrittenes Prostatakarzinom</b>   |
|                               | T3 a                                | Einseitige extrakapsuläre Ausbreitung   |
|                               | T3 b                                | Beidseitige extrakapsuläre Ausbreitung  |
|                               | T3 c                                | Tumor infiltriert Samenblase(n)   |
| <b>IV</b>                     | <b>T 4</b>                          | <b>Tumor infiltriert andere benachbarte Strukturen als Samenblasen</b>  |
|                               | T4 a                                | Tumor infiltriert Blase, Sphinkter oder Rektum  |
|                               | T4 b                                | Tumor infiltriert M. levator ani oder ist an Beckenwand fixiert   |
|                               | <b>N</b>                            | <b>Regionärer Lymphknotenbefall</b>   |
|                               | N1                                  | Metastase in solitärem Lymphknoten < 2cm  |
|                               | N2                                  | Metastase in solitärem Lymphknoten > 2cm jedoch < 5cm, oder in multiplen Lymphknoten (dabei keiner > 5cm)                 |
|                               | N3                                  | Metastase in Lymphknoten > 5cm  |
|                               | <b>M</b>                            | <b>Fernmetastasen</b>   |
|                               | M1 a                                | Fernmetastasen in extraregionären Lymphknoten   |
|                               | M1 b                                | Fernmetastasen im Knochen   |
|                               | M1 c                                | Andere Lokalisation der Fernmetastasen  |

Tabelle 1: Stadieneinteilung des Prostatakarzinoms

### 1.1.2 Therapie des Prostatakarzinoms (PCA)

Die Wahl der Therapie des PCA ist abhängig von Alter, Allgemeinzustand und Erkrankungsstadium des Patienten. Die Behandlung mit einer kurativen Zielsetzung kann auf zwei Arten erfolgen [Breul et al. 2003]. Erstens die radikale Prostatovesikulektomie, die die chirurgisch-operative Therapieform mit Entfernung der Prostata und der Samenbläschen bezeichnet, und zweitens eine Strahlentherapie mit kurativen Ansatz, die entweder als perkutane Strahlentherapie oder als permanente interstitielle Radiotherapie (Brachytherapie) durchgeführt wird.

#### 1.1.2.1 Radikale Prostatovesikulektomie

Die radikale chirurgische Operation ist die klassische Indikation für eine organbegrenzte Tumorerkrankung ohne Anhalt für das Vorliegen einer regionären Lymphknoten- oder Fernmetastasierung.

Dabei erfolgt der Zugang zur Prostata auf dem retropubischen oder perinealen Weg, neuerdings wird die Operation auch über einen laparoskopischen Zugang durchgeführt [Stolzenburg et al. 2003]. Um Lymphknotenmetastasen auszuschließen kann, je nach PSA-Wert und Gleason-Score eine Lymphadenektomie in der Fossa obturatoria und an den Vasa iliaca interna durchgeführt werden, um die Lymphknoten mittels einer histologischen Untersuchung im Schnellschnitt noch während der Operation beurteilen zu können. Bei Tumorfreiheit wird die Prostata samt Samenbläschen operativ entfernt. Danach wird der Blasen Hals rekonstruiert und mit der bulbären Harnröhre reanastomosiert [Graham et al. 1998].

Die Komplikationen der radikalen Prostatovesikulektomie umfassen eine perioperative Mortalität von ungefähr 1%, eine postoperative Morbidität von 9%, vor allem im kardiovaskulären Bereich durch die Narkose [Kundu et al. 2004, Stief 2003], sowie postoperative Komplikationen, allen voran eine Inkontinenz durch Verletzung des Blasensphinkters oder eine Impotenz durch Läsion des neurovaskulären Gefäßbündels.

Eine I-II° Stressinkontinenz wird bei bis zu 54% der Patienten zum Zeitpunkt der Entlassung festgestellt, die sich jedoch im Verlauf durch Beckenbodentraining und

spezielle Rehabilitationsmaßnahmen bei mehr als 90% der Patienten bessert beziehungsweise sistiert [Kundu et al 2004, Schwartz et al. 2002]. Das Ausmaß der erektilen Dysfunktion ist abhängig von der Operationstechnik. Können beide Gefäßnervenbündel, die lateral der Prostata verlaufen, im Rahmen der Operation geschont werden, so tritt eine erektile Dysfunktion lediglich bei bis zu 20% der operierten Patienten auf [Kundu et al. 2004, Catalona et al. 1993, Walsh et al. 1987]. Kann nur einseitig nervsparend operiert werden, kommt es bei bis zu 50% der Patienten zu einer postoperativen Impotenz. Ist eine Nerverhaltung nicht möglich, so kann die Impotenzrate bis zu 90% betragen [Schwartz et al. 2002].

Eine nervenerhaltende Operation mit Potenzertret ist nur in frühen Tumorstadien sinnvoll, da bei fortgeschrittenen Stadien bzw. ausgedehntem Tumorbefall die Radikalität der Operation zugunsten der filigranen Nervenerhaltung im Vordergrund stehen sollte, um nicht eine erhöhte Rate an tumorpositiven Absetzungsändern zu erzeugen [Huland et al. 1996].

### 1.1.2.2 Strahlentherapie

Die Indikation zur Strahlentherapie mit kurativer Zielsetzung setzt ebenfalls ein organbegrenztet Tumorwachstum des PCA ohne Lymphknoten- und ohne Fernmetastasierung voraus. Für die primäre Radiatio stehen verschiedene Therapiekonzepte zur Verfügung. Hierfür wird das zu bestrahlende Prostatakarzinom anhand des Gleason-Scores, des PSA-Wertes und des T-Stadiums in Risikogruppen eingeteilt [D'Amico et al. 1998].

In der Niedrigrisikogruppe (PSA-Wert  $< 10 \text{ ng/ml}$ , Gleason-Score  $< 7$ , T1c – T2a) sollte die maximale Strahlendosis bei der dreidimensional geplanten konformalen perkutanen Radiatio bei 72 Gy liegen [Stuschke et al 2004]. Die Samenblasen sollten nicht im Bestrahlungsfeld liegen. Alternativ kann bei dieser Niedrigrisikogruppe eine interstitielle Brachytherapie mit permanent implantierten Palladium- oder Jodseeds erfolgen [Roach et al 2000]. Hierfür wird zur Bestrahlungsplanung der TRUS eingesetzt und die Prostata perineal punktiert, um die Drüse mit den Seeds zu spicken.

In der Gruppe mit mittlerem oder hohem Risiko (mittleres Risiko: PSA  $> 10 \text{ ng/ml}$  und  $< 20 \text{ ng/ml}$ , Gleason Score 7, T2b) sollte die perkutane Bestrahlung als hochdosierte

Strahlentherapie mit einer Gesamtdosis von 78 Gy erfolgen [Pollack et al. 2002]. Hierbei sollten die Samenblasen mitbestrahlt werden. Bei lokal begrenzten Tumoren wird auf eine Beckenbestrahlung primär verzichtet.

Bei lokal fortgeschrittenen Tumoren kann ebenfalls eine Strahlentherapie erfolgen. Diese wird als eine perkutane oder als eine kombinierte Afterloading-Strahlentherapie (zusätzliche HDR-Brachytherapie) durchgeführt. Hier wird unter transrektaler Ultraschallkontrolle die Prostata mit Hohlnadeln gespickt über die dann eine Strahlenquelle appliziert wird. Zusätzlich sollte eine Therapie mit einem LHRH-Analogen durchgeführt werden [Bolla et al. 2002]. Bei fortgeschrittenen Tumoren sollte eine Beckenbestrahlung mit 50 Gy durchgeführt werden [Bolla et al. 2002].

Als Nebenwirkung ist bei der Strahlentherapie hauptsächlich mit einer akuten Strahlenzystitis oder Strahlenproktitis zwischen 40 und 60% der Patienten zu rechnen, die zum Teil reversibel sind [Middleton et al. 1995]. Diese können jedoch auch zu langanhaltenden Harn- und Stuhlinkontinenz führen. Die Harninkontinenzraten liegen in einem Bereich von 19%, eine Stuhlinkontinenz tritt bei ca. 30% der Patienten auf [Schwartz et al. 2002].

Die Impotenzraten liegen nach einer Strahlentherapie, je nach Verfahren, zwischen 25 und 50 %, und sind somit in einer ähnlich hohen Größenordnung wie bei der nervschonenden radikalen Operation [Robinson et al. 2002]. Harnröhrenstrikturen liegen bei bis zu 13% und liegen somit im Bereich der offenen, radikalen Operation [Middleton et al. 1995].

### 1.1.2.3 Prognose

Derzeit stellen die radikale Prostatovesikulektomie und die Strahlentherapie die Standardbehandlungen beim organbegrenzten Prostatakarzinom dar. Eine eindeutige Überlegenheit eines der beiden Therapieverfahren ist nicht sicher abzuleiten, zumal in den Studien eine gewisse Patientenselektion stattfindet [American Urological Association 1997]. In Langzeituntersuchungen über 15 Jahren besitzt die radikale Prostatovesikulektomie Vorteile gegenüber der Strahlentherapie [Goluboff et al. 1996, Adolfsson et al. 1995]. Die Heilungsraten nach radikaler Prostatovesikulektomie liegen, je nach Studie, bei 40 – 75 %, die der Radiotherapie

bei 19 – 46 %. Andere Daten, die die Überlebensraten nach radikaler Prostatovesikulektomie oder nach kurativer Strahlentherapie vergleichen, zeigen, dass die tumorspezifische 10-Jahres-Überlebensrate von Patienten im Stadium I und II bei der Strahlentherapie deutlich niedriger ist als bei der radikalen Prostatovesikulektomie [Breul et al. 2003]. Daher wird bei Patienten mit einer Lebenserwartung von mehr als 10 Jahren der radikalen Operation der Vorzug gegeben [Miller, Weißbach 1999].

#### 1.1.2.4 Watchful waiting

Das Verfahren „Watchful waiting“ besitzt insbesondere in skandinavischen Ländern einen hohen Stellenwert. Diesem liegt zugrunde, dass Patienten mit einem Prostatakarzinom zunächst keiner aktiven Behandlung, sondern einem Monitoring des PSA-Wertes zugeführt werden. Diese Patienten werden erst beim Auftreten von Symptomen, die durch die lokale Ausbreitung hervorgerufen werden hormonablativ behandelt. Eine 2002 veröffentlichte Studie versuchte zu klären, ob eine definitive Therapie durch eine Radikaloperation einen signifikanten Vorteil gegenüber dem „Watchful waiting“ besitzt. Hierfür wurden 695 Männer mit einem organbegrenzten PCA rekrutiert und in diese 2 Gruppen randomisiert. Nach einer Beobachtungszeit von 8 Jahren wiesen die Patienten nach radikaler Prostatovesikulektomie ein signifikant besseres tumorspezifisches Überleben gegenüber den Patienten in der Watchful-waitig-Gruppe auf. Die Rate an Fernmetastasen lag in der konservativ behandelten Gruppe um 50 % höher als in der Gruppe der operierten Patienten [Holmberg et al. 2002].

#### 1.1.2.5 Alternative Therapieformen

Wie schon beschrieben besitzen die klassischen Therapiemodalitäten eine hohe Rate an Komplikationen und Nebenwirkungen. Des Weiteren sind nicht alle Tumoren, die durch das PSA-Screening entdeckt werden, signifikant und benötigen daher nicht immer eine aggressive Therapie, wie Autopsiebefunde zeigen [Sheldon et al. 1980]. Dies ist vor allem bei organbegrenzten Tumoren älterer Patienten der

Fall. Aus diesem Grund und aufgrund der nicht unerheblichen Begleiterscheinungen der klassischen Therapieverfahren sind alternative, kurative, minimal invasive Therapieformen gefordert, um insbesondere die postoperative Morbidität zu senken. Diese sollten jedoch in ihrer Effektivität mit den klassischen definitiven Therapieverfahren gleichzusetzen sein. Bisher wurden als alternative Therapieverfahren der Hoch Intensive Fokussierte Ultraschall (HIFU) und die Kryotherapie untersucht.

Bei der HIFU-Methode werden hochintensive Ultraschallwellen über einen transrektal eingeführten Applikator durch die Rektumwand auf das tumortragende Zielgebiet in der Prostata fokussiert. Im Fokus des Ultraschalls wird ein Kombinationseffekt aus steilem Temperaturanstieg und Kavation verursacht, der zu irreversiblen Gewebenekrosen mittels thermischer Schädigung bei Temperaturen von ca. 65°C führt. In einer europäischen Multicenter Studie wurden Ergebnisse von 552 Patienten veröffentlicht. Ein PSA-Wert von 0,5 <sup>ng</sup>/ml, der einen Therapieerfolg anzeigt, wurde jedoch nur bei ca. 40% nach maximal fünf Behandlungssitzungen erreicht. Die Langzeitergebnisse stehen derzeit noch aus [Thüroff und Chaussy 2001, Chapelon et al. 1999]. Die Nebenwirkungen umfassen eine postoperative Stressinkontinenz von 25 % sowie dysurische Beschwerden. Durch eine Verlagerung des Focus nach medial wurde ein Sicherheitsabstand zum M. sphincter externus geschaffen. Hierdurch konnte die Rate der Stressinkontinenzen auf 4 % gesenkt werden [Thüroff und Chaussy 2001]. Jedoch kann durch diese Modifikation nicht die ganze Prostata behandelt werden, da im Bereich des externen Blasensphinkters ein Sicherheitsabstand eingehalten werden muss, um eine Inkontinenz zu vermeiden.

Die Kryotherapie verfolgt ein ähnliches Ziel, jedoch wird der thermische Schaden nicht durch Hitze sondern durch Kälte erzeugt. In mehreren Studien konnte eine negative Biopsierate nach 6 Monaten in 75-80 % der Fälle gezeigt werden [Sommer et al. 2001, Conolly et al. 1997, Cohen et al. 1996]. Eine häufige Nebenwirkung dieser Therapie ist eine postoperative Dysurie, die in ca. 10-17 % der Fälle eine transurethrale Elektroresektion der Prostata erfordert. Die Inkontinenzraten unterschiedlichen Ausmaßes werden in der Literatur mit bis zu 10 % angegeben. Eine postoperative Impotenz tritt in 41-100 % der Fälle auf. Rektourethrale Fisteln finden sich postoperativ in weniger als 5 % der Fälle [Sommer et al. 2001].

Als Konsequenz aus der mangelnden Selektivität und der onkologischen Ineffizienz der beiden oben genannten alternativen Therapieverfahren, die zudem auch hohe

Nebenwirkungsraten besitzen, wird die Suche nach neuen, selektiven Behandlungsverfahren weitergeführt. Ein Ansatz hierzu stellt die Photodynamische Therapie dar.

### 1.1.3 Photodynamische Therapie

#### 1.1.3.1 Prinzip der Photodynamischen Therapie

Die Photodynamische Therapie (PDT) ist ein Verfahren, das unter anderem zur Behandlung verschiedener Tumorerkrankungen eingesetzt wird. Ihr Prinzip beruht auf der Wechselwirkung von Licht mit bestimmten Farbstoffen, den so genannten Photosensibilisatoren, die sich im Tumorgewebe anreichern. Die exogene Applikation der Photosensibilisatoren kann systemisch (intravenös, oral) oder topisch erfolgen [Dougherty 2002, Loh et al. 1993].

#### 1.1.3.2 Historische Entwicklung der Photodynamischen Therapie

Der Begriff „photodynamische Wirkung“ existiert seit über einem Jahrhundert und wurde von dem Münchner Pharmakologen Hermann von Tappeiner geprägt. Dieser Effekt wurde von ihm als „lichtinduzierte Reaktion in biologischen Systemen unter Beteiligung von Sauerstoff“ bezeichnet. Er führte 1903 erst Therapieversuche am Patienten unter Einsatz des Photosensibilisators Eosin durch [Tappeiner et al. 1903]. Die erste klinische PDT muss allerdings Georges Dreyer aus Kopenhagen zugeschrieben werden. Er verwendete 1903 den Photosensibilisator Erythrosin, der jedoch ausgeprägte Nebenwirkungen aufwies, so dass die Versuche wieder eingestellt wurden [Dreyer 1903].

Eine Renaissance erlebte diese Therapiemethode in den 60er Jahren durch Lipson, der im Jahr 1961 die PDT zur Therapie gynäkologischer Tumoren einsetzte [Lipson et al 1961]. Im Jahre 1981 war ein Hämatoporphyrinderivat unter dem Namen Photofrin® erstmals kommerziell zur photodynamischen Therapie erhältlich. Photofrin® weist jedoch eine relativ niedrige Tumorselektivität auf und führt zu einer wochenlangen kutanen Photosensibilisierung [Dougherty et al. 1990]. Die erste Photodynamische Therapie im urologischen Fachgebiet wurde 1983 von Dougherty beim Harnblasenkarzinom beschrieben [Dougherty et al. 1983]. Vor diesem Hintergrund entwickelte man neue Substanzen zur Photosensibilisierung (Photosensibilisatoren der II. Generation). So sind dies unter anderem das mTHPC

---

(meso-tetrahydroxyphenyl Chlorin, Foscan®), ein Benzoporphyrinderivat (BPD-MA, Visodyne®), Purlytin (SnET2) und das durch 5-ALA gebildete Protoporphyrin IX (PPIX). Sie zeichnen sich vor allem dadurch aus, dass deren Nebenwirkungsspektrum geringer und Tumorselektivität höher ausgeprägt ist. Des Weiteren wurden neue Lichtapplikatoren und Lichtquellen konzipiert, um die PDT den neuen Therapiekonzepten anzupassen. Die Tabelle 2 gibt einen Überblick über die Entwicklung der Photodynamik im letzten Jahrhundert.

| <b>Jahr</b> | <b>Autor/ Referenz</b>    | <b>Entdeckung</b>  |
|-------------|---------------------------|--|
| 1900        | v. Tappeiner              | Prinzip der Phototoxizität: Synergistische Wirkung von fluoreszierenden Farbstoffen, Licht und Sauerstoff.   |
| 1903        | v. Tappeiner und Jesionek | Erste klinische Anwendung: Hautkarzinome werden mit Eosin und Licht behandelt.   |
| 1908        | Hausmann                  | Sensibilisierende Wirkung von Hämatoporphyrin (HP) nachgewiesen.   |
| 1913        | Meyer-Betz                | Selbstversuch: Eigeninjektion von Hämatoporphyrin; ausgeprägtes Ödem und Erythem an Sonnenlicht exponierten Hautflächen.   |
| 1942        | Auler und Banzer          | Selektive Anreicherung von systemisch injiziertem Hämatoporphyrin in transplantierten Karzinomen und Sarkomen der Ratte.   |
| 1948        | Figge                     | Vermehrte Anreicherung von Porphyrinen und Metalloporphyrinen im Tumor im Vergleich zum Normalgewebe.  |
| 1960        | Lipson                    | Herstellung von Hämatoporphyrin Derivat (HpD); höhere Tumorselektivität gegenüber HP.  |
| 1972        | Diamond                   | Photodynamische Wirkung von HpD in tierexperimentellen Untersuchungen an Tumoren nachgewiesen.   |
| 1976        | Kelly und Snell           | Erste klinische Anwendung von HpD zur Diagnose und Therapie beim Harnblasenkarzinom.   |
| 1983        | Dougherty                 | Dihämatoporphyrinester (DHE) wird als Fraktion des HpD chromatographisch isoliert. DHE zeichnet sich durch größere Tumorselektivität und geringere Hautsensibilisierung aus. |
| 1994        | Kriegmair und Hofstetter  | Klinische Anwendung von 5-Aminolävulinsäure in der Urologie zur photodynamischen Diagnostik des Harnblasenkarzinoms.   |
| 1995        | Kriegmair und Hofstetter  | Klinische Anwendung von 5-Aminolävulinsäure in der Urologie zur photodynamischen Therapie des Harnblasenkarzinoms.   |

Tabelle 2: Historische Entwicklung der Photodynamik

### 1.1.3.3 Physikalische Grundlagen der Photodynamischen Therapie

Bei der Interaktion von Licht mit einem Photosensibilisator wird die Energie der Lichtteilchen (Photonen) auf ein Elektron in der Atomhülle des Moleküls übertragen. Diese Energie führt dazu, dass das Elektron auf eine energiereichere Bahn angehoben wird. Dieser Vorgang wird als Absorption bezeichnet. Dabei wird das Molekül in einen elektronisch angeregten Zustand versetzt (**Singulett-Zustand**).

Das Elektron hat die Intention, in kürzester Zeit wieder in den Grundzustand zurückzukehren. Dies geschieht entweder unter Abgabe von Energie, die in Form von Bewegungsenergie, also Wärme, abgegeben wird, oder unter Bildung eines neuen Photons. Letzteren Vorgang bezeichnet man als **Fluoreszenz**. Diese Energie ist in der Regel niedriger als die Anregungsenergie.

Wie Abbildung 1 verdeutlicht ist bei manchen Photosensibilisatoren, so auch bei PPIX, zusätzlich ein direkter Energietransfer auf geeignete Partner, zum Beispiel Sauerstoffmoleküle, möglich. Grundvoraussetzung ist jedoch, dass der Photosensibilisator in einen langlebigeren Anregungszustand, dem **Triplettzustand** übergeht. Der Energieübertrag aus diesem Triplettzustand ist in der Lage aus molekularem Sauerstoff den so genannten „Singulett-Sauerstoff“ zu erzeugen. Nach dem Energietransfer kehrt der Photosensibilisator wieder in seinen Grundzustand zurückgekehrt und steht für weitere Absorptionsprozesse zur Verfügung.

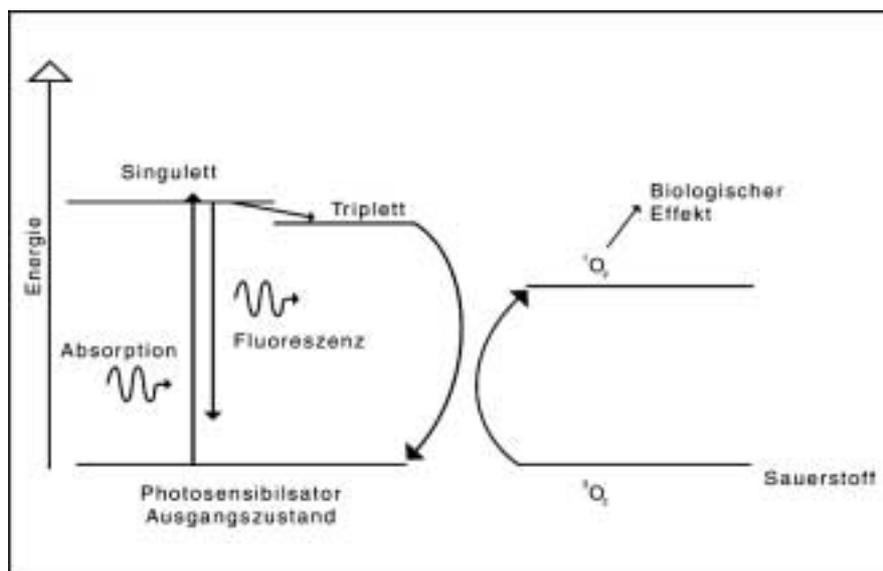


Abbildung 1: Energetische Veränderungen während der Anregung des Photosensibilisators

Dieser Prozess wird auch anhand des folgenden Reaktionsschemas deutlich (Abbildung 2).

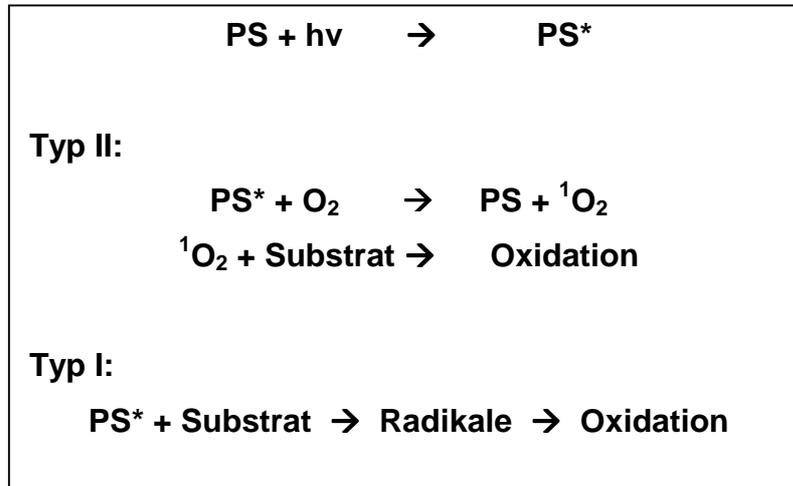


Abbildung 2: Vereinfachte Darstellung des photodynamischen Oxidationsprozesses

Das angeregte Sauerstoffmolekül ist sehr aggressiv und bewirkt die Zerstörung bzw. Veränderung wichtiger Zellstrukturen. So scheint der Singulett-Sauerstoff verantwortlich für die Schädigung von Plasmamembranen [Kessel 1981], Mitochondrien [Coppola 1980], und Organellen des Zytoplasmas bzw. Zellkerns [Kessel 1986] zu sein. Eine direkte Anregung von Sauerstoff durch Licht ist nicht möglich, sondern diese Reaktion muss durch Photosensibilisatoren katalysiert werden. Da die Radikale auch die Photosensibilisatoren angreifen, wird dieser während der photodynamischen Therapie verbraucht. Man nennt diesen Verbrauch „**Ausbleichen**“ bzw. „**bleaching**“. Somit verringern sich während der Bestrahlung die Fluoreszenzintensität und dadurch auch die Therapieeffizienz.

Ein idealer Photosensibilisator sollte eine hohe Triplettausbeute und eine lange Triplettlebensdauer besitzen, um eine hohe  ${}^1O_2$ -Ausbeute zu erhalten, und somit die Schädigung auf zellulärer Ebene zu gewährleisten.

#### 1.1.3.4 Biochemische Grundlagen der Photodynamischen Oxidationsprozesse:

Durch die Lichtabsorption des angereicherten Photosensibilisators kommt es zur Freisetzung von phototoxischen Reaktionsprodukten in Form von angeregten Sauerstoffmolekülen (Singulett-Sauerstoff), die auch als Sauerstoffradikale oder Superoxidradikale bekannt sind. Diese führen zu einem photochemischen Prozess [Dougherty et al. 1998, 2002]. Sie sind in der Lage, nahezu alle wichtigen, in Lebewesen vorkommenden, Strukturen oxidativ zu verändern und damit funktionell zu beeinträchtigen.

Das Superoxidradikal entsteht unter anderem bei vielen Autooxidationsreaktionen, aber auch durch physikalische Einflüsse, wie z.B. UV-Licht, Ultraschall oder Röntgenstrahlen. Ist eine Struktur des Organismus einem solchen Sauerstoffradikal ausgesetzt wird dies als oxidativer Stress bezeichnet [Löffler et al. 1997].

Auf molekularer Ebene scheint für den Zelltod vor allem die Schädigung von Plasmamembranen [Kessel et al. 1981], Mitochondrien [Coppola et al. 1980] und Organellen des Zytoplasmas und des Zellkerns [Kessel et al. 1986] verantwortlich zu sein. Ebenso sind diese Radikale in der Lage, die DNA durch Modifikation der Desoxyribose zu verändern, was zu Strangbrüchen führen kann. Ebenso können Basen der DNA modifiziert werden, was zum oxidativen Abbau, aber auch zu Änderungen der Basenpaarungen führt. Besonders häufig sind die Thymindimerisierungen [Löffler et al. 1997].

In Proteinen sind vor allem die Aminosäuren Methionin, Histidin, Tryptophan und Cystein betroffen. So führt die Interaktion mit diesen Radikalen zu Veränderungen in der Aktivität der Proteine.

Besonders gut sind die Auswirkungen der oxidativen Schädigung an Membranlipiden untersucht. Dabei werden vor allem die mehrfach ungesättigten Fettsäuren modifiziert. Hierbei kommt es autokatalytisch zu einer Anhäufung von Lipidperoxiden, was zur Entstehung von Aldehyden, Dialdehyden Dicarbonyl-Verbindungen und Ketonen führt. Als Folge kommt es zu Veränderungen der zellulären Funktionen [Löffler et al. 1997]. All diese Reaktionen sind in der Lage, Apoptose oder Nekrose zu induzieren.

### 1.1.3.5 5-Aminolävulinsäure (5-ALA) und Hämbiosynthese

5-ALA ist eine körpereigene Substanz und stellt bei der Hämbiosynthese eine Vorläufersubstanz für Protoporphyrin IX (PPIX), einer photodynamisch aktiven Substanz, dar. In Tumorzellen wird 5-ALA in PPIX umgewandelt und angereichert. Diese selektive Anreicherung führt bei der photodynamischen Therapie zu einer gezielten Tumorzerstörung unter Schonung des nicht tumorbefallenen Gewebes.

Der genaue Mechanismus der PPIX-Akkumulation ist noch nicht genau geklärt, er scheint jedoch eine multifaktorielle Ursache dafür verantwortlich zu sein. Zum einen scheinen einige Enzyme der Hämbiosynthese in Tumorzellen, im Gegensatz zu normalen Zellen, unterschiedliche Aktivitäten aufzuweisen. So besitzt das Enzym Porphobilinogendeaminase (PBGD) eine erhöhte Aktivität, wodurch vermehrt PPIX gebildet werden kann [Krieg et al. 2000]. Zum anderen ist die Enzymaktivität der Ferrochelatase gemindert. Hierdurch ist der Abbau von PPIX zu Häm erniedrigt [del Batlle 1993, Kondo et al. 1993, El-Sharabasy et al. 1992, Leibovier et al. 1988, Schoenfeld et al. 1988]. Ein weiterer Grund für die Akkumulation von PPIX scheint die veränderte Aufnahme von 5-ALA in die Tumorzelle zu sein. So kann die Gewebepenetration von 5-ALA durch eine erniedrigte Diffusionsbarriere in Tumorzellen erhöht sein. Diese Hypothese wird bei der Fluoreszenzmarkierung von Basaliomen als einer der wesentlichen Selektivitätsmechanismen angeführt [Kennedy et al. 1990]. Des Weiteren wird 5-ALA durch eine vermehrte Anzahl und Aktivität der Kanalproteine aktiv in die Tumorzelle aufgenommen [Steinbach et al. 1995].

Die Hämbiosynthese besteht aus acht, von Enzymen katalysierten Schritten, wobei der erste und die letzten drei Schritte im Mitochondrium, die anderen vier Schritte im Zytosol einer Zelle stattfinden, wie Abbildung 3 verdeutlicht.

Im Mitochondrium entsteht durch die Kondensation von Glycin und Succinyl-CoA unter Abspaltung von CoA-SH das labile Zwischenprodukt  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -ketoacidat. Diese  $\beta$ -Ketosäure decarboxyliert spontan zu 5-ALA. Die Reaktion wird durch die  $\delta$ -Aminolävulinatsynthase ( $\delta$ -ALA-S1 und  $\delta$ -ALA-S2) katalysiert, welche Peridoxalphosphat (Vitamin-B<sub>6</sub>) abhängig ist. Dies ist der geschwindigkeitsbestimmende Faktor bei der Synthese von Porphyrinen und des Hämoleküls, da alle folgenden Enzyme im Überschuss vorliegen. Ein Vitamin-B<sub>6</sub>-Mangel führt somit zu einer Verringerung der Hämbiosynthese. Die Regulation der 5-

ALA-Synthese ist abhängig von der Menge an Häm in der Zelle; befindet sich viel Häm in der Zelle, findet eine direkte Inhibition der 5-ALA-Synthese statt, was zu einer Verringerung der 5-ALA führt. Dies wird als negativer Feedback-Mechanismus bezeichnet. Durch exogene Applikation kann dieser geschwindigkeitsbestimmende Faktor umgangen werden.

Durch aktiven Transport gelangt 5-ALA in das Zytosol der Zelle. Dort verbinden sich zwei Moleküle des Substrates, um Porphobilinogen (PBG), ein Produkt mit einem Pyrrolring, zu bilden. Diese Reaktion wird von dem Enzym Porphobilinogensynthase (5-ALA-Dehydratase) katalysiert, wobei dieses Enzym in allen Geweben vorkommt. Anschließend kondensieren unter dem katalytischen Einfluss der PBG-Desaminase vier PBG-Moleküle unter Abspaltung von Ammoniak zu Hydroxymethylbilan, dem ersten Tetrapyrrol dieser Synthesekette.

Bei der Entstehung von Uroporphyrinogen III findet ein Austausch der Propionat- und Acetatseitenketten eines Pyrrolringes statt. Dieser Schritt wird durch das Enzym PBG-Isomerase katalysiert. Bei dem letzten Schritt im Zytoplasma werden die Acetatgruppen aller vier Ringe unter dem Einfluss der Uroporphyrinogen-Decarboxylase zu Methylgruppen unter Abspaltung von  $4\text{CO}_2$  decarboxyliert. Es entsteht Koproporphyrinogen III.

Dieses tritt dann wieder in das Mitochondrium ein, wobei durch das Enzym Koproporphyrinogen-Oxidase unter Abspaltung von  $2\text{CO}_2$  und  $2\text{H}_2\text{O}$  mittels einer oxidativen Decarboxylierung Protoporphyrinogen IX entsteht. Dieses ist dann die direkte Vorstufe für Protoporphyrin IX, welches durch eine Abspaltung von 6 Wasserstoffatomen, also einer Oxidation des Tetrapyrrolringes, gebildet wird. Dieser Schritt wird von der Protoporphyrinogen-Oxidase katalysiert.

Bei der letzten Reaktion der Hämsynthese wird zweiwertiges Eisen ( $\text{Fe}^{2+}$ ) durch die Ferrochelatase in das Protoporphyrin IX-Molekül eingebaut, so dass Häm entsteht [Löffler et al 1997]. Dieses nimmt, wie oben beschrieben, durch eine negative Feedback-Regulation Einfluss auf die endogene Synthese von 5-ALA.

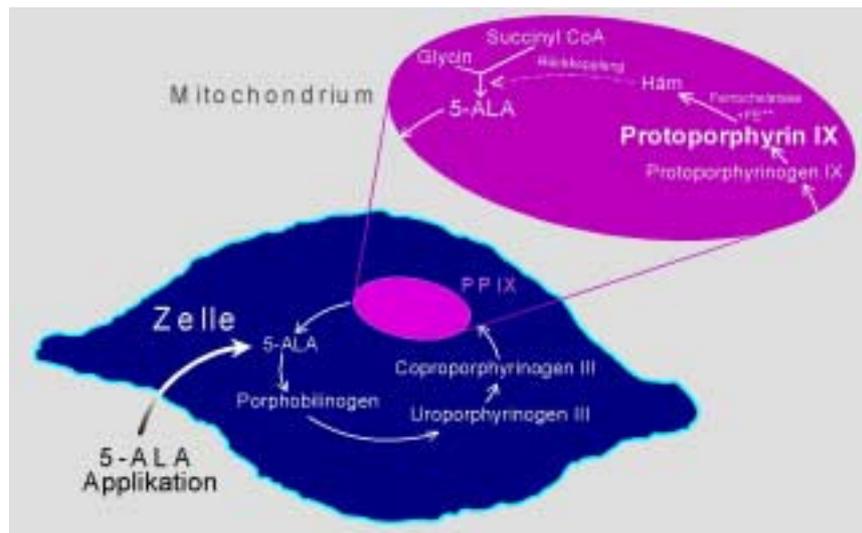


Abbildung 3: Hämbiosynthese

Zusammengefasst kann man die Synthese des PPIX auf eine einfache Formel bringen, denn aus acht 5-ALA-Molekülen wird ein PPIX-Molekül synthetisiert.

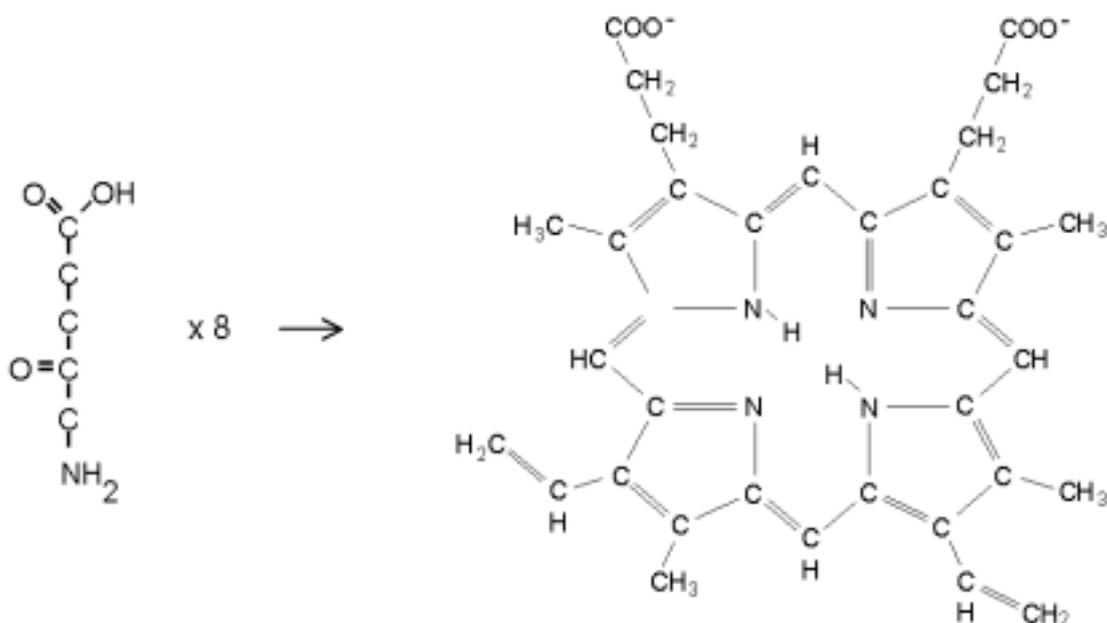


Abbildung 4: vereinfachte Darstellung der PPIX-Synthese

### 1.1.3.6 Photodynamische Therapie des Prostatakarzinoms

Zur Photodynamischen Therapie des PCA mittels 5-ALA-induziertem PPIX stehen bisher nur wenige Literaturangaben zur Verfügung, jedoch wurden verschiedene andere Photosensibilisatoren schon zur PDT des PCA angewendet. Erste Erfahrungen mit Photofrin®, einem Photosensibilisator der ersten Generation, wurden 1990 von Windahl et al. über zwei Patienten mit einem Prostatakarzinom berichtet [Windahl et al 1990]. Mit der Entwicklung der nebenwirkunsärmeren Photosensibilisatoren der zweiten Generation oder ihrer Vorläufersubstanzen, so zum Beispiel mTHPC (meso-tetrahydroxyphenyl Chlorin, Foscan®), SnET2 (Purlytin®), BPD-MA (Benzoporphyrinderivat, Visodyne®), Pd-Bakteriopheophorbid (Tookad®) oder 5-ALA wurden durch verschiedene Arbeitsgruppen in vitro und tierexperimentelle Untersuchungen zur PDT am Prostatakarzinom durchgeführt [Koudinova et al. 2003, Chang et al. 1999, Lee et al. 1999, Momma et al 1998, Chen et al. 1998].

Über eine 5-ALA-vermittelte PDT finden sich in der Literatur nur wenige Angaben. In der einzigen experimentellen Studie über eine PDT des PCA mit dem Photosensibilisator 5-ALA berichtet Chakrabarti über in vitro Untersuchungen an Prostatakarzinomzelllinien. Er konnte in seinen Untersuchungen einen phototoxischen Effekt nach der PDT mit 5-ALA nachweisen [Chakrabarti et al. 1998].

## 1.2 Fragestellung

Seit der Einführung der PSA-Bestimmung in die urologische Vorsorgeuntersuchung ist die Inzidenz des Prostatakarzinoms stark angestiegen. Aufgrund der sensitiveren Diagnostik werden Prostatakarzinome in einem früheren Tumorstadium aber und auch in einem jüngeren Lebensalter diagnostiziert. Da die kurativen Therapieverfahren hohe Nebenwirkungsraten besitzen wird derzeit nach alternativen Therapieverfahren gesucht. Die bisherigen Alternativen (Hoch Intensiver Fokussierter Ultraschall (HIFU), Kryotherapie) sind jedoch onkologisch ineffizient. Mit der Photodynamischen Therapie steht prinzipiell ein therapeutisches Verfahren zur Verfügung, dass neben einem geringen Nebenwirkungsprofil eine effiziente Tumorthherapie ermöglichen könnte.

Um die Grundlage für klinische Untersuchungen zur PDT mittels 5-ALA-induziertem PPIX am humanen PCA zu schaffen war es jedoch erforderlich, folgende Fragestellungen an einem Tumormodell zu validieren:

- Findet eine selektive Anreicherung von 5-ALA-induziertem PPIX in der Tumorzelle eines Prostatakarzinoms statt?
- Zu welchem Zeitpunkt erreicht die PPIX-Akkumulation im Tumor einen Maximalwert und wann ist somit der bestmögliche Therapiezeitpunkt?
- Kann durch eine PDT mit 5-ALA induziertem PPIX ein signifikanter Effekt im Tumormodell nachgewiesen werden?

## 2. Material und Methodik

Ziel dieser Untersuchungen war es, das Potenzial einer photodynamischen Therapie mit 5-ALA-induziertem PPIX in einem Tumormodell nachzuweisen.

Dieses Versuchsvorhaben wurde in 2 Schritte gegliedert:

1. In einer ersten Versuchsreihe erfolgte die Validierung der Lokalisation und der Kinetik von PPIX im Tumormodell des Prostatakarzinoms.
2. In der zweiten Versuchsreihe wurde der Effekt der photodynamischen Therapie auf das Karzinom nach Applikation von 5-ALA untersucht.

### 2.1 In vivo Tumormodell

Für die Experimente des in vivo Tumormodells wurden männliche Kopenhagen-Ratten in einem Alter von 2 Monaten und einem Körpergewicht von 200 – 250 Gramm verwendet, die von der Firma Charles River GmbH (Sulzfeld, Deutschland) bezogen wurden. Das Tumormodell wurde von der Regierung von Oberbayern als Ausnahmegenehmigung nach § 9 Abs. 1 Satz 4 TierSchG bewilligt.

#### 2.1.1 Dunning Tumor, Zellreihen

Die Untersuchungen wurden an einem Dunning Tumor durchgeführt. Der Dunning Tumor stellt ein malignes Prostatakarzinom der Ratte dar und wurde in einer 22 Monate alten, männlichen Kopenhagen Ratte 1961 von W.F. Dunning isoliert [Dunning et al. 1963]. Von diesem Tumor stammen mehrere Tumorsubzelllinien ab. Die einzelnen Zellreihen besitzen unterschiedliche biologische Eigenschaften in Wachstum, Androgenabhängigkeit und Metastasierungsverhalten. Abbildung 5 verdeutlicht die Subgruppen des Dunning-Tumors.

Während der Vermehrung des heterogenen Originaltumors wurde 1976 von Isaacs et al. ein schnell wachsender, anaplastischer Tumor, der AT-1 benannt wurde,

entdeckt. Dieser AT-1 Tumor wurde nach dem Metastasierungsverhalten in zwei unterschiedliche Sub-Gruppen eingeteilt: Die eine Gruppe metastasiert ausschließlich in die Lunge, was ihr den Namen Mat-Lu einbrachte, die andere metastasiert sowohl in die Lunge als auch in Lymphknoten, welche als Mat-LyLu bezeichnet wurde.

Aus dem heterogenen Originaltumor mit androgenabhängigen und –unabhängigen Tumorzellen wurde zusätzlich, nach Kastration der Ratte, die androgenunabhängige Zellreihe mit unterschiedlich schnell wachsenden Tumoren selektiert. 1978 wurde diese von Isaacs et al. als HI-S-Zelllinie bezeichnet [Isaacs et al. 1978].

Zusätzlich wurde noch eine zweite Gruppe von anaplastischen Tumoren von Isaacs et al. 1981 entdeckt, die jedoch keine Fernmetastasen setzen. Diese Gruppe wurde als AT-2 bezeichnet [Isaacs et al. 1981 und 1986]. Die verschiedenen Sub-Gruppen werden nochmals in Abbildung 5 graphisch dargestellt.

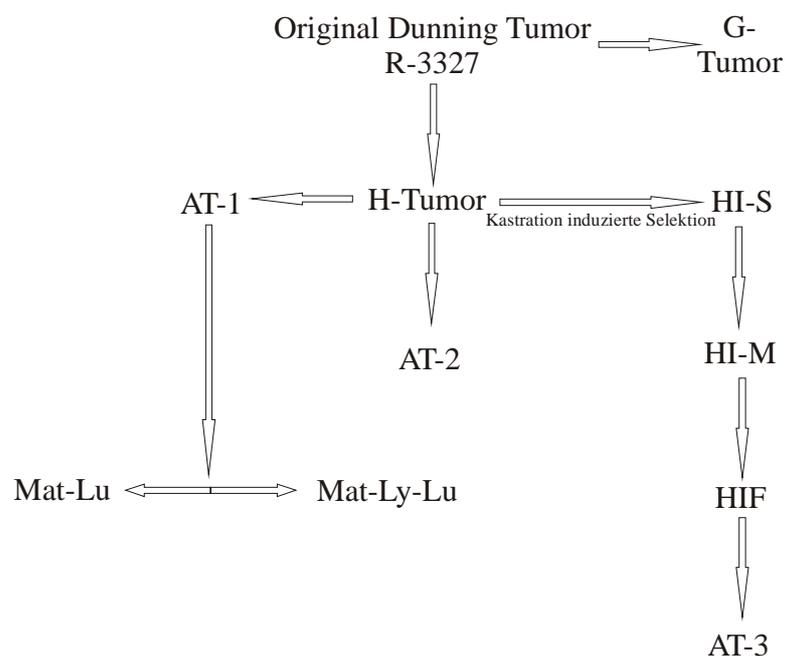


Abbildung 5: Subgruppen des Dunning Tumors

In unseren Untersuchungen zur Photodynamischen Therapie des Prostatakarzinoms wurde die Mat-LyLu-Zellreihe genutzt. Sie verfügt über eine Verdopplungszeit von 2 Tagen und besitzt das Potential in Lymphknoten und Lunge zu metastasieren [Isaacs et al. 1986]. Dieser Tumor weist im hormonellen Verhalten wesentliche

Übereinstimmungen mit dem humanen Prostatakarzinom auf. Die Tumorzellen wurden über die Firma ATCC, Manassas, VA, USA beschafft und gemäß den angegebenen Standardverfahren kultiviert und vermehrt.

### 2.1.2 Tumorzellinjektion

Die Ratten wurden mittels einer Isoflurannarkose, die über eine Maskenbeatmung verabreicht wurde, anästhesiert. Dabei betrug der Isoflurananteil 2 % bei einer Sauerstoff-Flussrate von  $0.7 \text{ l}_{\text{min}}$ . Nachdem eine stabile Anästhesie erreicht wurde, konnte die rechte Flanke rasiert und  $1 \cdot 10^5$  Tumorzellen an dieser Stelle subkutan injiziert werden.

Das Tumorstadium wurde täglich beurteilt und die Größe des Tumors dabei notiert. Alle Experimente an diesem heterotopen Tumormodell wurden bei einer Tumorstadiumgröße von 5 mm im Durchmesser durchgeführt.

### 2.1.3 5-Aminolävulinsäure

5-ALA ist als kristallines Pulver kommerziell erhältlich (5-Aminolävulinsäure-Hydrochlorid, Fa. medac GmbH, Wedel, Deutschland). Um 5-ALA parenteral verabreichen zu können, musste das licht- und temperaturempfindliche 5-Aminolävulinsäure-Pulver in PBS (phosphate buffered saline) aufgelöst werden. Hierfür wurde an jedem Versuchstag eine 5-ALA-Lösung mit einer Konzentration von 45 mg 5-ALA pro ml PBS verwendet. Diese Lösung wurde den Tieren in einer Dosierung von 150 mg/kg Körpergewicht in die rechte Vena femoralis injiziert. Die gewählte Dosierung entsprach den Literaturdaten für die intravenöse 5-ALA-Applikation in verschiedenen Tumormodellen bei Nagern [Sroka et al. 1996, Stummer et al. 1998]. Alle Versuche wurden in abgedunkelten Räumen durchgeführt.

### 2.1.4 Zeitpunkt der Tumorsektion

Die Tumorsektion wurde bei den Versuchen zur Pharmakokinetik von 5-ALA und den Untersuchungen zur Lokalisationsdiagnostik von PPIX im Tumor noch am selben

Tag durchgeführt. Bei den Versuchen zur PDT wurden die Tumoren 48 Stunden nach der Laserbestrahlung chirurgisch entfernt.

Die resezierten Tumoren der Pharmakokinetikuntersuchungen und der PDT-Experimente wurden in Formalin eingelegt und danach in Paraffin zur histologischen Untersuchung eingebettet.

Die Tumoren, die zur Lokalisation von PPIX im Tumor dienten, wurden unverzüglich nach der Resektion in Tissue teck eingebettet und in flüssigem Stickstoff eingefroren, um Gefrierschnitte anzufertigen.

## 2.2 Pharmakokinetik

5-ALA ist die Vorläufersubstanz des eigentlichen Photosensibilisators PPIX. Ein Maß für die Menge des in den Tumorzellen zu PPIX umgesetzten 5-ALA ist die PPIX-Fluoreszenzintensität. Für die Pharmakokinetik wurden die Fluoreszenzspektren als Fluoreszenzintensität bei 635nm gegen die Zeit aufgetragen. Die Pharmakokinetik wurde an 7 Tieren durchgeführt.

### 2.2.1 Versuchsaufbau

Der Versuchsaufbau bestand aus einem konventionellen Zystoskop mit einer 0°-Optik (0°-Hopkins Optik, Karl STORZ GmbH, Tuttlingen, Deutschland). Zur Anregung der Fluoreszenz von PPIX diente eine inkohärente Lichtquelle, die Licht einer Wellenlänge von  $\lambda=385-440\text{nm}$  (blaues Licht) emittiert (D-Light, Karl STORZ, Tuttlingen, Deutschland). Die Lichtquelle wurde mittels eines Glasfaserkabels mit dem Zystoskop an dem Anschluss für die Zystoskopbeleuchtung verbunden. Dadurch konnte das blaue Licht auf das Tumoreal geleitet werden, um die PPIX-Fluoreszenz anzuregen [Zaak et al. 2002].

Die Fluoreszenz von PPIX wurde über die Optik des Zystoskops gemessen. Über einen dort aufgesetzten Beamsplitter und mittels eines flexiblen Lichtwellenleiters (HCN 600) wurde das Fluoreszenzlicht an einen Optical Multichannel Analyzer geleitet (OMA, SI – Spectroscopy & Imaging GmbH, Erwitte, Deutschland). Dieser Optical Multichannel Analyzer registrierte die Fluoreszenzintensität im Wellenlängenbereich von  $\lambda=450-800\text{nm}$ . Die Einzelspektren wurden mittels eines Computers abgespeichert (Kai Rick Software, Sigma Plot 4.01). Abbildung 6 zeigt den schematischen Versuchsaufbau.

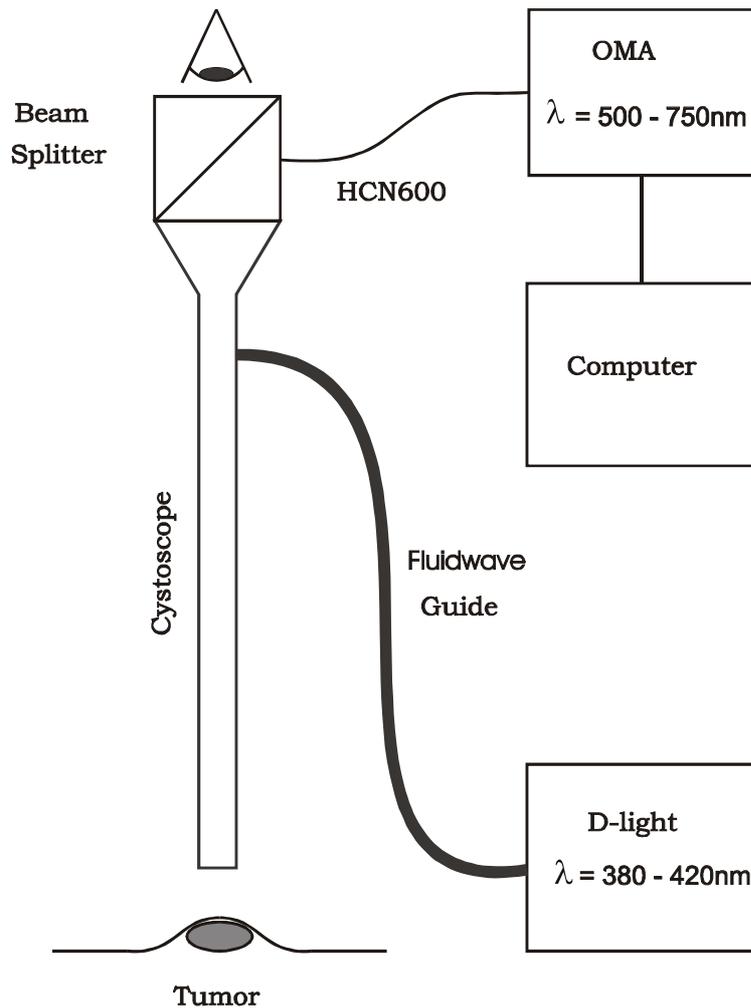


Abbildung 6: schematischer Versuchsaufbau zu den pharmakokinetischen Untersuchungen von 5-ALA-induziertem PPIX

### 2.2.2 Versuchsdurchführung

Nachdem die Ratten durch die Isoflurannarkose in eine stabile Anästhesie versetzt wurden, erfolgte eine aktuelle Gewichtsbestimmung, um die Menge der zu applizierenden 5-ALA-Lösung zu definieren. Die Dosierung wurde mit  $150^{\text{mg } 5\text{-ALA}}/\text{kg}_{\text{KG}}$  festgelegt. Die gewählte Dosierung entsprach den Literaturdaten für die intravenöse 5-ALA-Applikation in verschiedenen Tumormodellen bei Nagern [Stummer et al. 1998, Sroka et al. 1996].

Für das Experiment wurden die Ratten an der rechten Flanke und an der rechten Oberschenkelinnenseite rasiert. Der Tumor wurde anschließend chirurgisch freigelegt. Es erfolgte eine erste Fluoreszenzmessung über dem Tumor und über dem umliegenden Bindegewebe, um die Autofluoreszenz des Tumorgewebes zu bestimmen. Dieses Autofluoreszenzspektrum wurde abgespeichert, um später bei der Berechnung der relativen Fluoreszenzintensität eines jeden Spektrums, das während der Aufzeichnung vom Tumor genommen wurde, eine Autofluoreszenzkorrektur durchzuführen.

Danach wurde die rechte Vena femoralis chirurgisch freigelegt und dargestellt, um die 5-ALA-Lösung intravenös zu verabreichen. Dazu benutzten wir einen speziell für die Punktion der V. femoralis hergestellten Venenkatheter, der aus einer 1 ml Insulinspritze, einem Verbindungsschlauch und einem Katheter für die i.v. Injektion bestand. Nach erfolgreicher 5-ALA-Applikation wurde die Vene komprimiert, um die Blutung zu stillen. Anschließend wurde die Haut über der Vena femoralis durch eine fortlaufende Naht primär verschlossen, das Versuchstier unter das Cystoskop gelegt und das Cystoskop mit einem Abstand von 3 mm über dem Tumor positioniert, um einen Beleuchtungsdurchmesser für das blaue Fluoreszenzanregungslicht von 2 – 3 mm auf dem Tumor zu erhalten.

Es wurden Fluoreszenzspektren über einen Zeitraum von insgesamt 8 Stunden im Abstand von jeweils 10 Minuten gemessen und abgespeichert. Währenddessen wurde der Tumor kontinuierlich mit isotonischer Kochsalzlösung beträufelt, um ihn vor einem Austrocknen zu schützen. Um einem Ausbleichen des Photosensibilisators entgegenzuwirken wurde der Tumor zwischen den Messungen abgedeckt.

Unmittelbar nach dem Ende des Experiments wurden die Tumoren chirurgisch reseziert und in Formalin zur histologischen Untersuchung konserviert. Die Versuchstiere verstarben an einer Überdosis Isoflouran und Äther.

Zur Auswertung wurden die Fluoreszenzspektren durch die Subtraktion der am Anfang bestimmten Autofluoreszenz korrigiert. Um eine Pharmakokinetik erstellen zu können wurde die Fluoreszenz-Intensität jeweils bei  $\lambda=635\text{nm}$  als Funktion gegen die Zeit nach der Injektion aufgetragen. Das Maximum der Fluoreszenz-Intensität und die zugehörige Zeitspanne waren hierbei die zu untersuchenden Parameter.

## 2.3 Lokalisationsdiagnostik

Nach der Auswertung der PPIX-Fluoreszenzkinetik wurde an drei Versuchstieren die Lokalisationsbestimmung von PPIX vorgenommen, um zu zeigen, dass sich PPIX ausschließlich in den schnell proliferierenden Zellen des Tumors, nicht jedoch in dem umliegenden Bindegewebe anreichert. Dabei wurde der Tumor zum Zeitpunkt der maximalen PPIX-Fluoreszenzintensität, der in der Pharmakokinetik bestimmt wurde, entnommen.

### 2.3.1 Versuchsdurchführung

An 3 Versuchstieren wurde in Maskennarkose die rechte Flanke und Oberschenkelinnenseite rasiert. Nach Gewichtskontrolle wurde die rechte Vena femoralis über eine Hautinzision freigelegt, die errechnete Menge der 5-ALA-Lösung intravenös appliziert und die Vene komprimiert, um die Blutung zu stillen. Nach dem Verschluss der eröffneten Stelle über der Vena femoralis wurden die Versuchstiere in abgedunkelten Käfigen gehalten.

Nach 3.5 Stunden wurden die Tiere erneut mittels Maskenbeatmung anästhesiert und die Tumoren chirurgisch entnommen, um sie sofort in Tissue teck einzubetten und in flüssigem Stickstoff einzufrieren. Danach wurden sie in Alufolie gepackt, um sie vor Tageslicht zu schützen. Die Versuchstiere wurden mittels einer Überdosis an Äther getötet.

Von den eingefrorenen Tumoren wurden Gefrierschnitte angefertigt. Dabei diente jeder zweite Gefrierschnitt der Fluoreszenzmikroskopie, um die PPIX-Fluoreszenz beurteilen zu können. Die benachbarten Schnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt, um die Fluoreszenzschnitte mit dem histologischen Korrelat, bei dem man die Lokalisation der PPIX-Fluoreszenz beurteilen kann, lichtmikroskopisch zu vergleichen.

## 2.4 Photodynamische Therapie

Wie das Therapieprotokoll in Tabelle 3 zeigt wurde die PDT mit einer Bestrahlungsstärke (Bestrahlungsleistung) von  $100 \text{ J/cm}^2$  ( $100 \text{ mW/cm}^2$ ) an 18 Tieren durchgeführt, 4 Tiere erhielten eine PDT mit einer Bestrahlungsstärke (-leistung) von  $50 \text{ J/cm}^2$  ( $50 \text{ mW/cm}^2$ ). An 12 Tieren wurden Kontrolluntersuchungen durchgeführt. Die Kontrollgruppen beinhalteten unbehandelte Versuchstiere oder Tiere, die entweder nur 5-ALA als Dunkelkontrolle oder nur die Bestrahlung als Lichtkontrolle erhielten. Für die Experimente wurde die Tumorgroße auf einen Durchmesser von 5 mm festgelegt. Die 5-ALA-Dosis, die den Dunkelkontrollen oder der Therapiegruppe intravenös verabreicht wurde, wurde entsprechend den Voruntersuchungen mit  $150 \text{ mg/kg KG}$  festgesetzt.

|                            | Tiere Anzahl | Energie ( $\text{J/cm}^2$ ) | 5-ALA ( $\text{mg/kg KG}$ ) |
|----------------------------|--------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Weder ALA noch Bestrahlung | 6            | 0                           | 0                           |
| Nur 5-ALA                  | 3            | 0                           | 150                         |
| Nur Bestrahlung            | 3            | 100                         | 0                           |
| PDT $100 \text{ J/cm}^2$   | 18           | 100                         | 150                         |
| PDT $50 \text{ J/cm}^2$    | 4            | 50                          | 150                         |

Tabelle 3: Therapieprotokoll:

### 2.4.1 Versuchsaufbau

Wie in den Abbildung 7 und 8 zu sehen ist, erfolgte die photodynamische Bestrahlung mit einem Diodenlaser, der Licht der Wellenlänge  $\lambda=635\text{nm}$  emittiert. Das emittierte Laserlicht wurde über einen Lichtwellenleiter zum Tumorgewebe geleitet. Die Einstellung des Bestrahlungsfeldes erfolgte über eine Linse. Diese Linse wurde an einem Stativ befestigt, um genügend Abstand zum Tumor zu gewährleisten. Das Bestrahlungsfeld wurde mit einer Schublehre genau ausgemessen, die Strahlenleistung mit einem Powermeter exakt bestimmt.

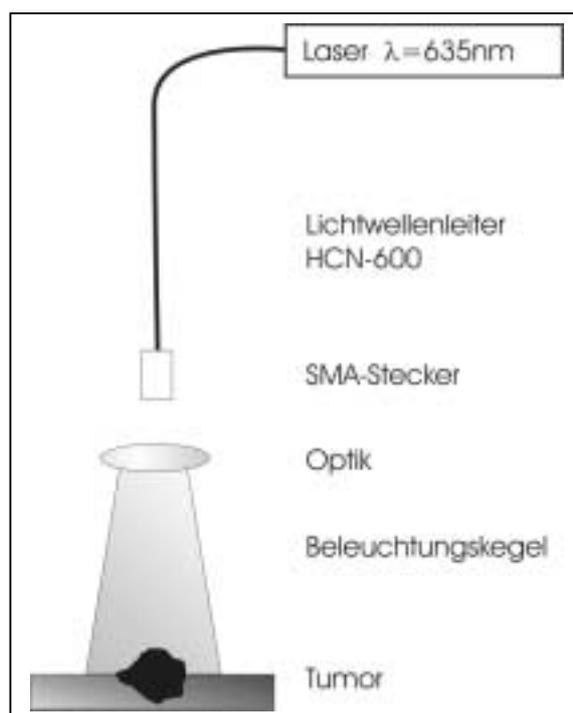


Abbildung 7: schematischer Versuchsaufbau

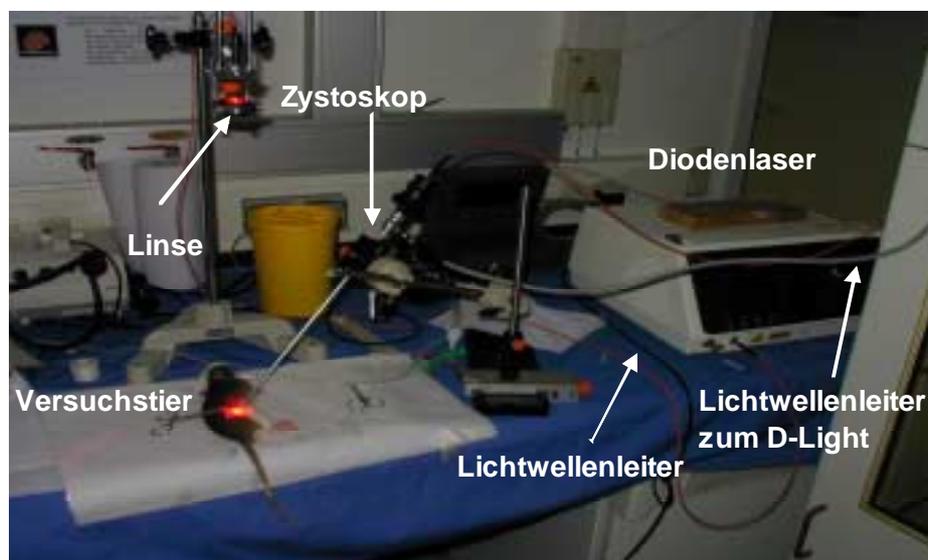


Abbildung 8: Versuchsaufbau

### 2.4.2 Versuchsdurchführung

Die Ratten wurden stabil mittels Inhalationsanästhesie narkotisiert. Nach erfolgter Gewichtsbestimmung, um die Menge der zu applizierenden 5-ALA-Lösung errechnen zu können, wurde die rechte Oberschenkelinnenseite und die rechten Flanke rasiert, um die Vena femoralis zur i.v. Injektion freizulegen. Die 5-ALA-Lösung wurde langsam mittels des hergestellten Venenkatheters in die Vene gespritzt. Nach der 5-ALA-Applikation wurde die Vene mit einem sterilen Tupfer für ca. 3 Minuten komprimiert, um die venöse Blutung zu stillen. Die Haut der Oberschenkelinnenseite wurde durch eine fortlaufende Wundnaht primär verschlossen und das Tier in einen abgedunkelten Käfig gelegt, um vor dem Tageslicht geschützt zu sein.

Die photodynamische Therapie wurde nach einer 5-ALA-Inkubationszeit gemäß der maximalen PPIX-Fluoreszenzintensität, welche aus der Pharmakokinetik gewonnen wurde, durchgeführt. Die Ratten wurden erneut mittels der Inhalationsnarkose anästhesiert. Danach wurde der Tumor durch einen Hautschnitt freigelegt und die Größe direkt vor der Bestrahlung mit einer Schublehre in 3 Dimensionen bestimmt.

Die Bestrahlung erfolgte über einen Diodenlaser (CeraLas PDT 633, BioLitec). Das Licht dieser kohärenten Lichtquelle mit einer Wellenlänge von  $\lambda=635\text{nm}$  wurde mittels eines flexiblen Lichtwellenleiters (LWL) zum Tumorgewebe geleitet, um den photodynamischen Prozess zu induzieren. Die Strahlenleistung wurde auf  $100\text{mW}/\text{cm}^2$  bzw.  $50\text{mW}/\text{cm}^2$  festgelegt. Um ein homogenes Bestrahlungsfeld zu bekommen wurde dieses auf eine Fläche von  $1,5\text{cm}^2$  festgelegt, was einem Durchmesser von ungefähr  $1.4\text{cm}$  entspricht. Die Strahlenleistung wurde mit einem kalibrierten Leistungsmessgerät vor und nach der Bestrahlung kontrolliert und sollte demnach  $150\text{mW}$  respektive  $75\text{mW}$  betragen. Um die Bestrahlung von  $100\text{J}/\text{cm}^2$  beziehungsweise  $50\text{J}/\text{cm}^2$  zu erhalten wurde jeder Tumor  $1000$  Sekunden lang bestrahlt.

Das Bestrahlungsfeld wurde so gewählt, dass der Tumor zentral in diesem Feld lag und das fibromuskuläre Stroma mitbestrahlt werden konnte, um die Auswirkungen der Therapie auf die Umgebung beurteilen zu können. Während der Bestrahlung wurde der Tumor alle  $100$  Sekunden mit  $0.9\%$  Kochsalzlösung beträufelt, um einer Austrocknung entgegen zu wirken. Nach der Bestrahlung wurde die Haut über dem Tumor mittels einer Hautnaht primär durch Einzelknopfnähte verschlossen und das Versuchstier wieder in einen abgedunkelten Käfig gelegt.

Die Tumoren wurden 48 Stunden nach der PDT reseziert und die TumorgroÙe wurde mittels einer Schublehre erneut vermessen. Die Tumoren wurden in Formalin eingelegt um histopathologisch mittels HE-Schnitten den Anteil des nekrotischen Arealis auszuwerten.

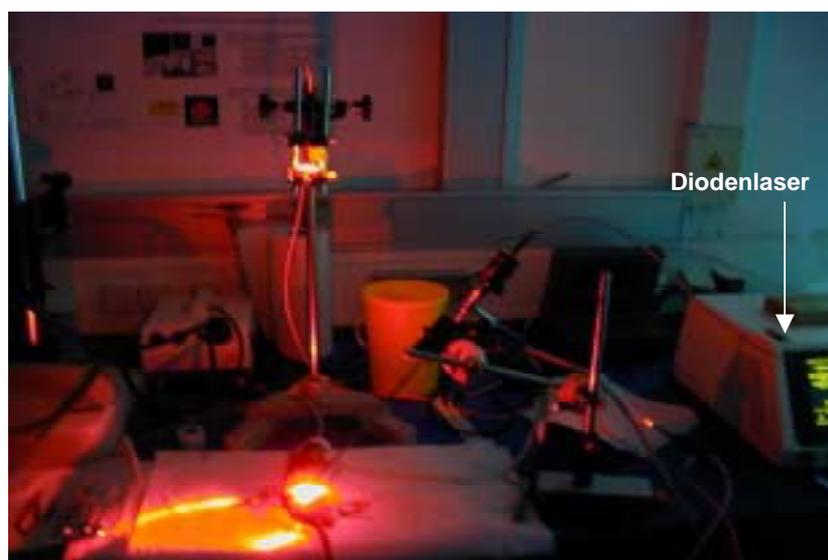


Abbildung 9: Versuchsdurchföhrung

## 2.5 Bleachingmessungen

Während der photodynamischen Therapie wurden zusätzlich Messungen für die Bestimmung des Photobleachings durchgeführt. Dies dient dazu, die Abklingrate der PPIX-Fluoreszenz und damit den Verbrauch des Photosensitizers während der PDT zu bestimmen. Die einzelnen Fluoreszenzspektren wurden nach Korrektur als Funktion gegen die Zeit aufgetragen um eine charakteristische Kurve zu erhalten, die den Verbrauch von PPIX aufzeigt.

### 2.5.1 Versuchsaufbau

Für die Bleachingmessungen verwendeten wir denselben Versuchsaufbau wie bei der Fluoreszenzmessung. Dieser bestand wie beschrieben aus einem Cystoskop das über den Tumor angebracht war. Die Fluoreszenz wurde mit dem D-Light angeregt und die Fluoreszenzspektren von PPIX über den optical multichannel analyzer gemessen, aufgenommen und im Computer gespeichert.

### 2.5.2 Versuchsdurchführung

Es wurde alle 50 Sekunden die PDT unterbrochen um Fluoreszenzspektren von PPIX aufzunehmen und zu speichern. Hierfür wurde der Tumor mit dem blauen Licht des D-Light mit der Wellenlänge von  $\lambda=380-420\text{nm}$  angeregt und das Fluoreszenzspektrum aufgezeichnet. Danach wurde die PDT fortgesetzt.

## 2.6 Histologische Auswertung

Um den Nekroseanteil der nach der PDT gewonnenen Tumoren der Therapie- und Kontrollgruppen zu quantifizieren, wurden diese in einem Einbettautomaten in Paraffin eingebettet und mittels eines Rotationsmikrotoms in 5 µm dicke Präparate geschnitten. Diese wurden auf einen Objektträger gezogen und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

### 2.6.1 Durchführung der histologischen Auswertung

Für die histologische Auswertung wurden alle Tumorschnitte mikroskopisch untersucht. Für die Berechnung des Nekroseanteils wurde dabei immer der Tumor mit der größten Fläche, als zentralsten Schnitt ausgewählt und zur Messung der Durchmesser von Länge und Breite herangezogen. Die senkrecht aufeinander liegenden Durchmesser wurden zuerst für den gesamten Tumor bestimmt. Dazu diente eine an dem Mikroskop angebrachte Messskala im Okular. War der Tumor größer, so dass die Messskala mehrmals angelegt werden musste, wurde eine markante Stelle im Präparat, die mit einem Skalenabschnitt zusammenfällt, gesucht. Dort wurde die Skala wieder angelegt und die einzelnen Werte addiert. Es wurde für diese Messung die 20-fache Vergrößerung des Mikroskops gewählt.

Als nächstes wurde die Fläche der Nekroseherde bestimmt. Dazu wurde die 40-fache Vergrößerung gewählt, um die einzelnen Nekroseherde aufzusuchen. Danach wurde wieder auf die vorige Vergrößerung zurückgeschaltet und die beiden Durchmesser von Länge und Breite für die einzelnen Nekrosefelder ausgemessen. Einzelne Zellen, die diesen Zellverbänden nicht angeschlossen waren wurden nicht berücksichtigt, da hier keine Bestimmung der Durchmesser möglich war.

Letztendlich wurden die Flächen aus den Durchmessern berechnet, in der Annahme, dass der Tumor eine Ellipsenform besitzt (was sich histologisch bestätigte). Dazu benutzten wir die Formel:  $A = \text{Länge (L)} \times \text{Breite (B)} \times \pi$ .

Waren mehrere Nekrosefelder innerhalb eines Tumors zu finden, wurden die berechneten Flächen addiert, um die Gesamtfläche der Nekrose zu erhalten.

Der Wert  $A^{(\text{Nekrose})}/A_{(\text{Tumor})}$  lieferte dann den prozentualen Anteil der gesamten Nekrosefläche an der Tumorphäche.

Die histopathologische Untersuchung und die Ergebnisse der Bestimmung der Durchmesser wurden durch einen Histopathologen verifiziert.

## 2.7 Statistik und Fehlerabschätzung

Die histologischen Effekte der PDT auf die Tumoren der Therapiegruppe im Vergleich zu den Kontrolltieren wurden durch den Man-Whitney-Test und durch den Wilcoxon-Test, der keine Normalverteilung voraussetzt, statistisch ausgewertet. Als Signifikanzniveau wurde  $p < 0,01$  festgelegt. Signifikante Unterschiede sind in den Tabellen gekennzeichnet. Es wurden die Programme Microsoft Excel, Microsoft Word sowie SPSS verwendet.

### 3. Ergebnisse

Sämtliche Versuche wurden von den Tieren gut vertragen. Systemische Auffälligkeiten bestanden nach der Applikation von 5-ALA nicht, phototoxische Hautreaktionen wurden nicht beobachtet. Ebenso wurde die PDT im Beobachtungszeitraum von 2 Tagen gut vertragen. Nach Exstirpation der Tumoren konnte makro- und mikroskopisch keine Nekrose im umliegenden fibromuskulären Stroma festgestellt werden.

#### 3.1. Pharmakokinetik

Die Pharmakokinetik von 5-ALA wurde an 7 Tieren durch eine Messung der Fluoreszenzintensität von PPIX durchgeführt. Abbildung 10 zeigt ein typisches PPIX-Spektrum mit dem Fluoreszenzmaximum bei  $\lambda=635\text{nm}$  und einem (angedeuteten) zweiten Gipfel bei  $\lambda=705\text{nm}$ .

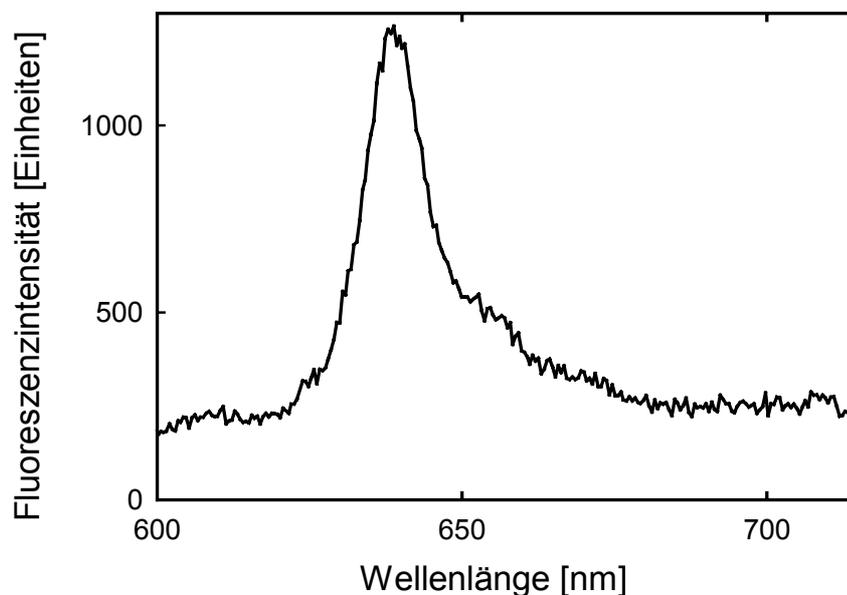


Abbildung 10: Fluoreszenzspektrum von PPIX

In Abbildung 11 ist die Fluoreszenzkinetik eines Tumors nach exogener Applikation von 5-ALA und Subtraktion der gewebeeigenen Autofluoreszenz dargestellt. Dabei wurde die korrigierte relative Fluoreszenzintensität bei  $\lambda=635\text{nm}$  eines jeden Fluoreszenzspektrums gegen die Zeit aufgetragen.

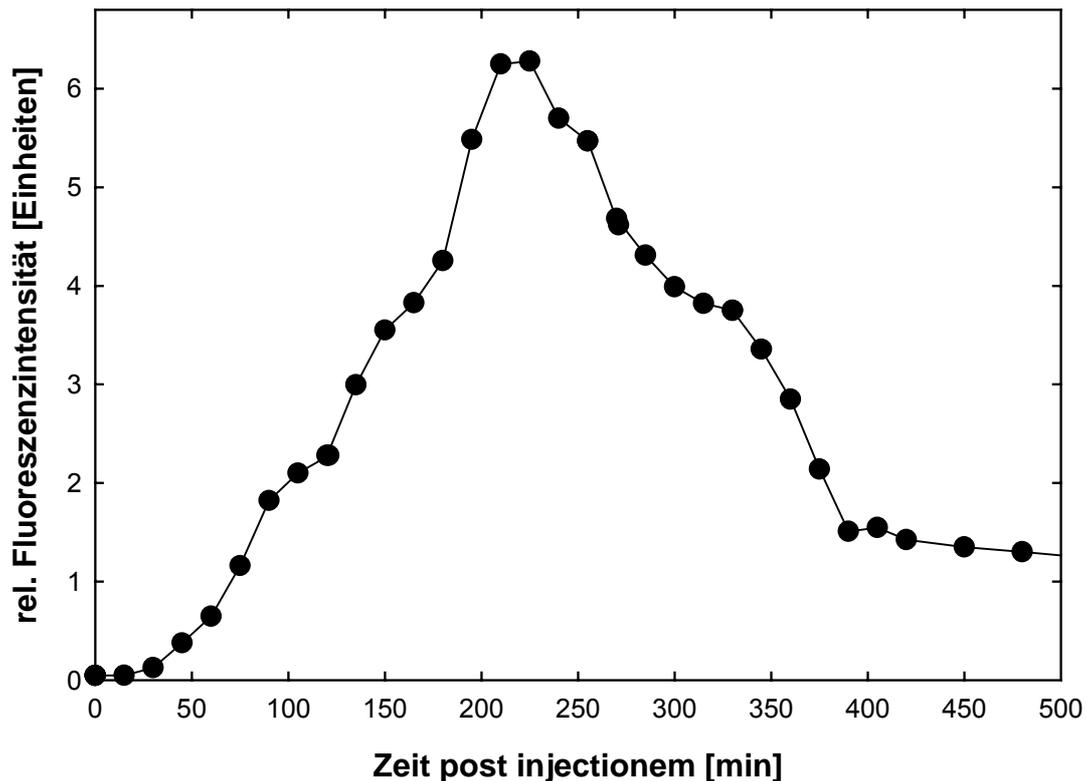


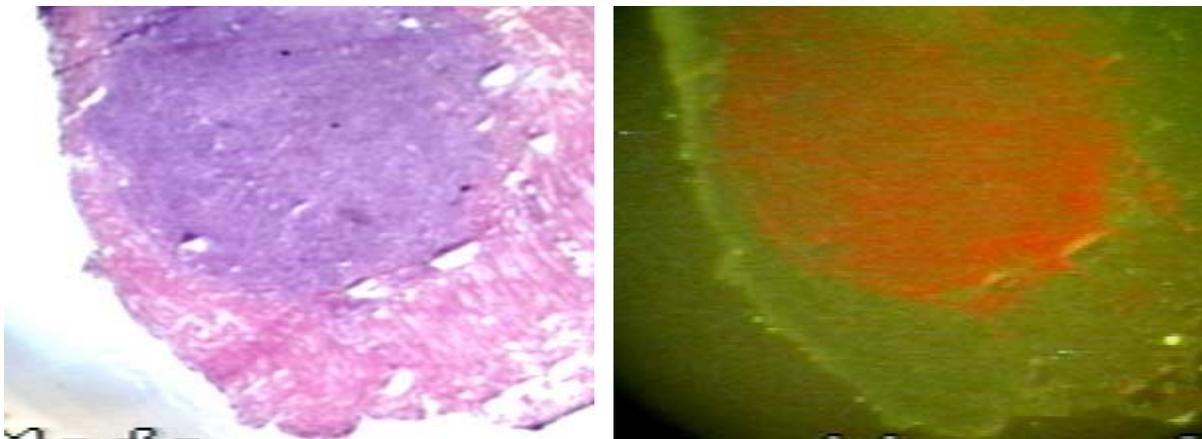
Abbildung 11: Fluoreszenzkinetik eines Dunning-Tumors

Es zeigt sich ein Anstieg der Fluoreszenzintensität in den ersten 3 Stunden nach der Injektion von 5-ALA. Dieser Anstieg erreicht sein Maximum nach ca. 3,5 Stunden. Danach erfolgt ein kontinuierlicher Abfall der Fluoreszenzintensität. Nach 8 Stunden ist nur noch wenig Fluoreszenz vorhanden.

Nach der Auswertung aller 7 Fluoreszenzkinetiken lag der Zeitraum des Maximums der PPIX-Fluoreszenz zwischen 3 bis 4.5 Stunden post injectionem von 5-ALA.

### 3.2. Lokalisationsdiagnostik

Die Lokalisation von PPIX wurde an 3 Tumoren experimentell untersucht. In Abbildung 12 sind in der Übersichtsvergrößerung die Schnitte eines Tumors zum einen in der HE-Färbung sowie der korrespondierende Gefrierschnitt nach Applikation von 5-ALA in der Fluoreszenzmikroskopie dargestellt. Das Gewebe wurde 3,5 bis 4 Stunden nach der 5-ALA-Injektion entnommen und sofort in flüssigem Stickstoff kryokonserviert.



HE-Färbung

Fluoreszenzschneit

Abbildung 12: Tumorübersicht bei 2-facher Vergrößerung – benachbarte Schnitte in Licht- und Fluoreszenzmikroskopie

In der HE-Färbung ist ein, runder, violett angefärbter Tumor dargestellt, der sich, der sich vom umliegenden, helleren fibromuskulären Stroma deutlich abgrenzt. Im Fluoreszenzschneit hebt sich das Bindegewebe durch die typische, grüne Autofluoreszenz, die durch körpereigene Fluorophore (z.B. NADH, Kollagen, Flavine) hervorgerufen wird, von der roten PPIX-Fluoreszenz deutlich ab. Die PPIX-Fluoreszenz scheint, selektiv auf das Tumorgewebe begrenzt zu sein.

In den höheren Vergrößerungen auf Abbildung 13 und 14 kann man erkennen, dass ausschließlich die Tumorzellen PPIX speichern.

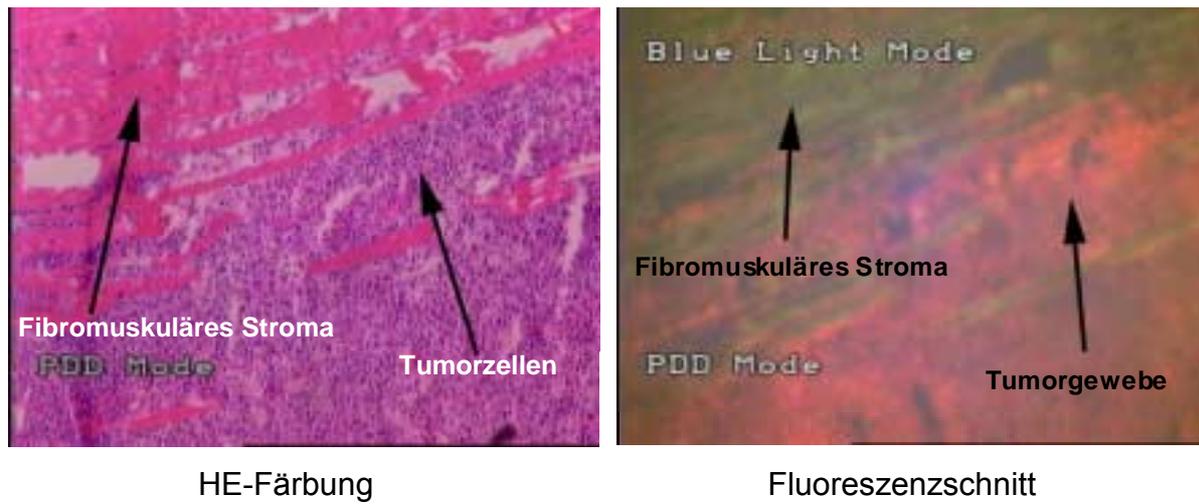


Abbildung 13: 10-fache Vergrößerung desselben Tumors – benachbarte Schnitte in Licht- und Fluoreszenzmikroskopie

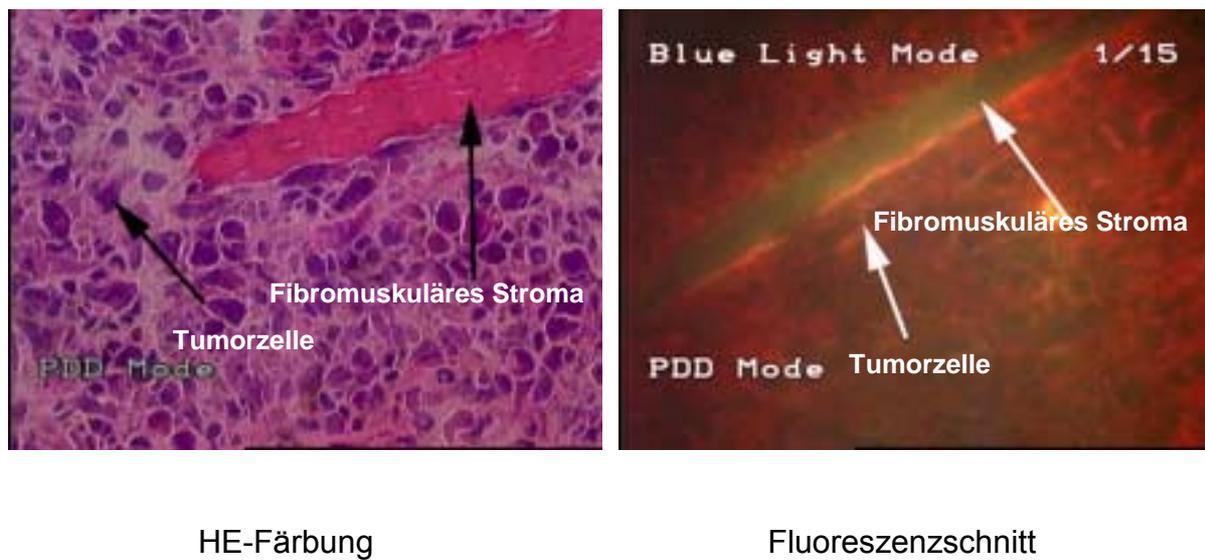


Abbildung 14: 40-fache Vergrößerung des Tumors – benachbarte Schnitte in Licht- und Fluoreszenzmikroskopie

### 3.3. Photodynamische Therapie und histologische Auswertung

Die photodynamische Therapie wurde an 18 Tieren durchgeführt. Bei keinem Tier kam es zu Unverträglichkeiten, kein Tier verstarb während der Nachbeobachtungszeit von 2 Tagen post interventionem.

Tabelle 4 zeigt die makroskopischen Größenunterschiede der Tumoren vor und nach der PDT. Die Größenvolumina der induzierten Tumoren in der PDT-Gruppe vor der photodynamischen Intervention waren mit einem Mittelwert von 82,7 mm<sup>3</sup> vermessen. Nach der PDT betrug der Mittelwert nur noch 52,41 mm<sup>3</sup>, was somit einer prozentualen Größenveränderung von -41,6% entspricht. Im Gegensatz hierzu stieg der Mittelwert der Tumoren in den Kontrollgruppen von 41,33 mm<sup>3</sup> auf 116,5 mm<sup>3</sup> an was einer Zunahme um 226,6% entspricht.

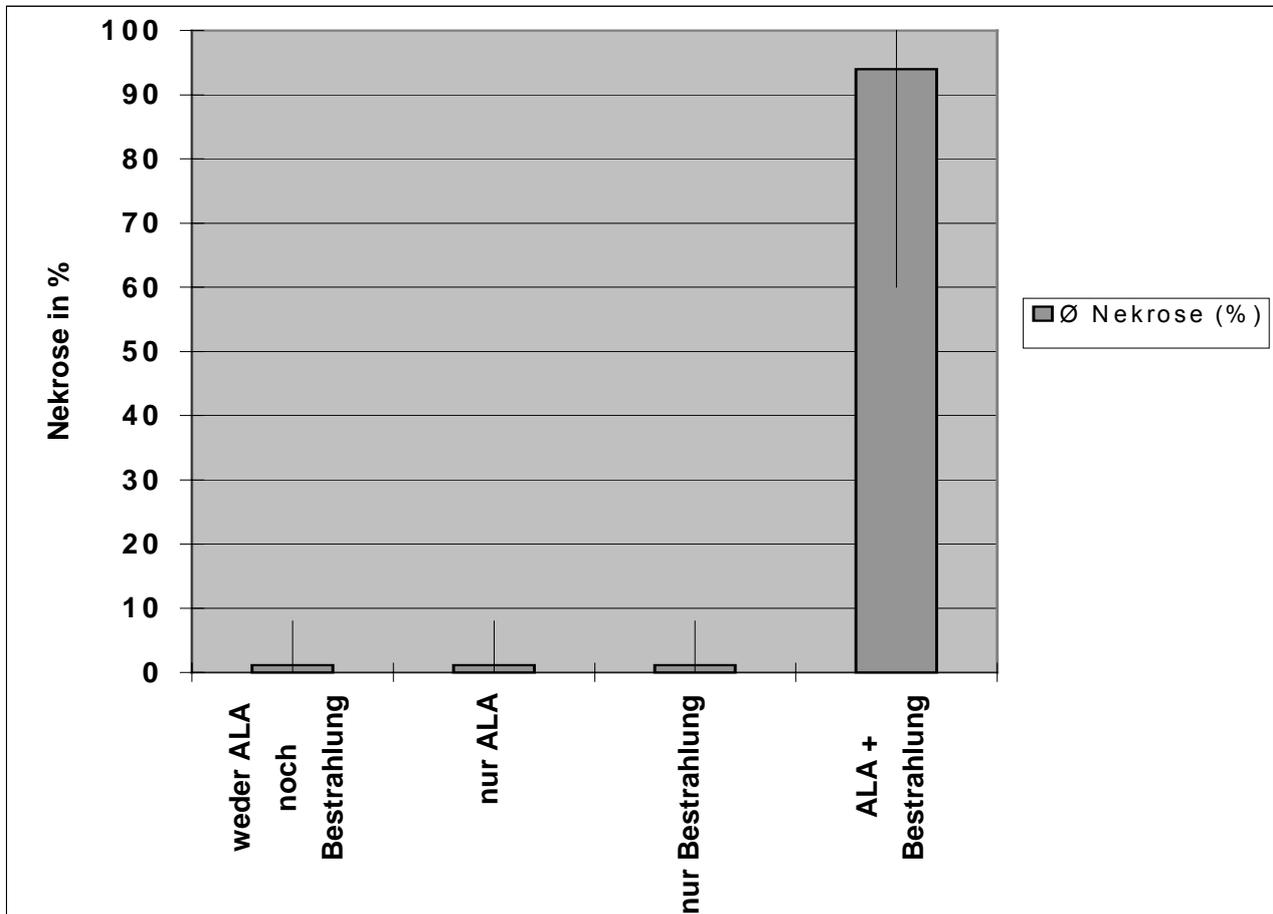
| <b>Gruppe</b>      | <b>Tumorvolumen vor PDT (mm<sup>3</sup>)</b>        | <b>Tumorvolumen nach PDT (mm<sup>3</sup>)</b>         | <b>Veränderung (%)</b> |
|--------------------|---|---|------------------------|
| PDT<br>(n=18)      | MW: 82,17<br>Range: 18-224<br>SA: 45,22<br>SF: 9,64 | MW: 52,41<br>Range: 12-168<br>SA: 60,44<br>SF: 12,88  | - 41,6 %*              |
| Kontrolle<br>(n=6) | MW: 41,33<br>Range: 12-70<br>SA: 24,52<br>SF: 10,01 | MW: 116,50<br>Range: 28-200<br>SA: 62,07<br>SF: 25,34 | + 226,6 % <sup>#</sup> |

MW = Mittelwert; SA = Standardabweichung; SF = Standardfehler

\* p = 0,004; <sup>#</sup> = 0,028

Tabelle 4: Volumen der Tumoren vor und nach der Intervention in der PDT- und Kontrollgruppe sowie deren Volumenveränderung:

Die Ergebnisse der histopathologischen Auswertung der verschiedenen Behandlungsgruppen zeigen Abbildung 15 und Tabelle 5.



Signifikanz  $p < 0,01$  (Therapiegruppe gegenüber jeder Kontrollgruppe)

Abbildung 15: Ergebnisse der PDT

|                              | Tiere Anzahl | Nekrose (%) | Mittelwert $\pm$ Stabw. | Median |
|------------------------------|--------------|-------------|-------------------------|--------|
| Weder 5-ALA noch Bestrahlung | 6            | 0 – 8       | $6 \pm 4$               | 0      |
| Nur 5-ALA                    | 3            | 0 – 8       | $8 \pm 3$               | 0      |
| Nur Bestrahlung              | 3            | 0 – 8       | $7 \pm 4$               | 0      |
| PDT $100 \text{ J/cm}^2$     | 18           | 60 – 100    | $94 \pm 12$             | 100    |
| PDT $50 \text{ J/cm}^2$      | 4            | 74 – 97     | $89,25 \pm 10,62$       | 93     |

Tabelle 5: Ergebnisse der histologischen Bestimmung von Nekroseanteil, Mittelwert mit Standardabweichung und Median:

Das Ergebnis der histopathologischen Auswertung zeigte, wie in Tabelle 2 und Abbildung 16 zu sehen ist, ein Nekrose von 100 % ( $94 \pm 12$ ) in der PDT-Gruppe, die mit  $100 \text{ J/cm}^2$  behandelt wurden. Die 4 Tiere, die mit einer Energiedichte von  $50 \text{ J/cm}^2$  bestrahlt wurden, zeigten Nekrosen im Bereich von 93% ( $89 \pm 10$ ). Die Kontrollgruppen wiesen Nekrosen von maximal 8% auf. Dies entspricht einem Signifikanzwert von  $p < 0,01$ .

### **Histologie:**

Die aufgearbeiteten histologischen Präparate zeigten mehrheitlich eine typische Schichtung avitaler Zellen, die die histologischen Kriterien von nekrotischen und apoptotischen Zellen erfüllten. Neben komplett apoptotischen Arealen, die vor allem zentral anzutreffen waren, imponierten auch Areale mit nekrotischen Tumorzellen. Es konnten jedoch auch Zellagen mit vitalen Tumorzellen nachgewiesen werden, die vor allem als vitaler Randsaum von wenigen Zellagen imponierten. Abbildungen 16 und 17 zeigen einen typischen Dunning-Tumor nach PDT. Dieser Tumor wies eine Nekrose von 98% auf.

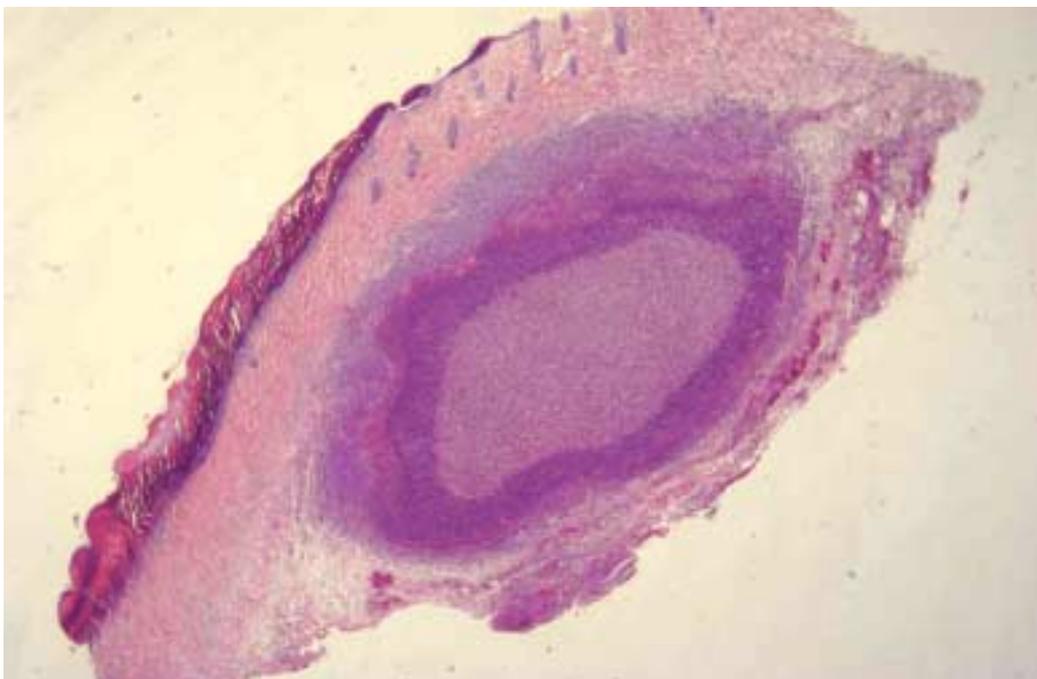
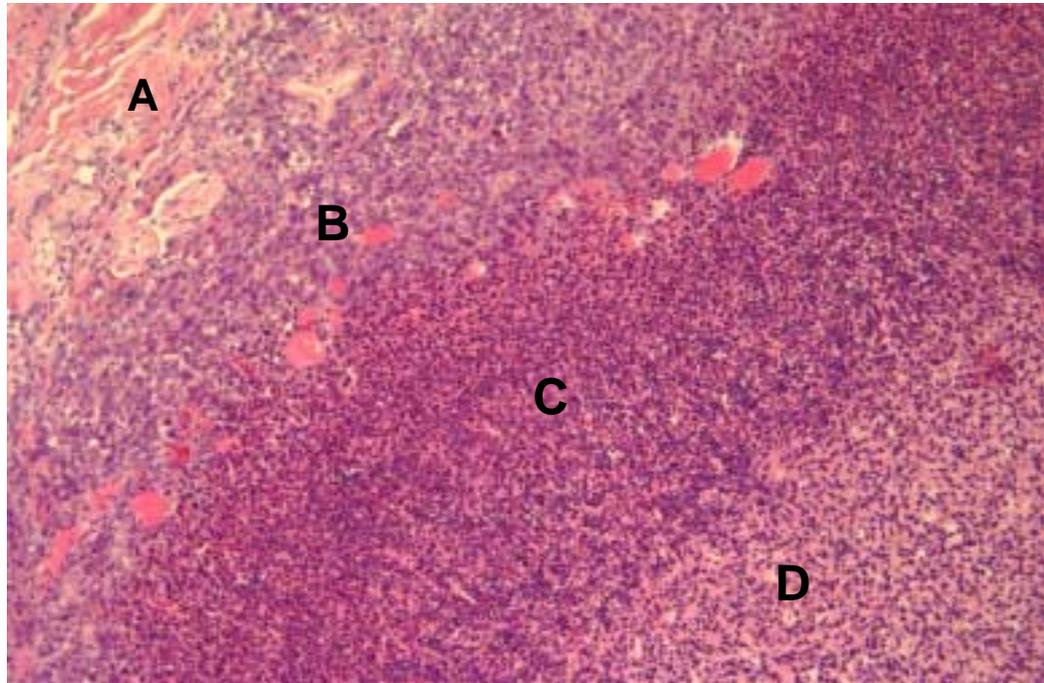


Abbildung 16: Dunning-Tumor nach PDT in der Übersichtsvergrößerung:

Die 10-fache Vergrößerung verdeutlicht diese Schichtung der Nekrose.



- A = subepidermales Gewebe mit Lymphozyteninfiltration
- B = Randsaum mit vitalen Tumorzellen (2 %)
- C = Zone mit nekrotischen und apoptotischen Zellen
- D = zentrale Zone mit apoptotischen Zellen

Abbildung 17: 10fache Vergrößerung des Tumors von Abbildung 16 nach PDT

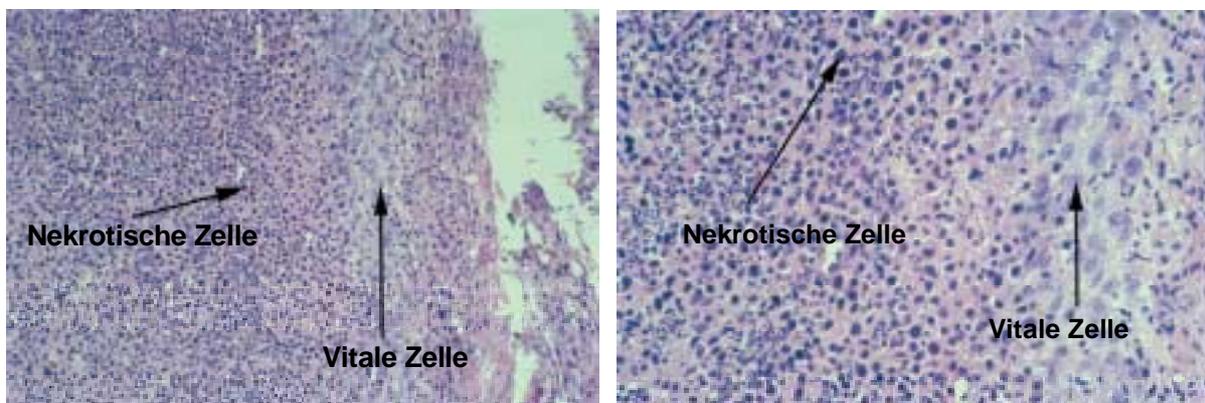


Abbildung 18: Nekrose mit vitalem Randsaum:

Als weitere Nekroseform imponierte bei wenigen Tumoren eine inhomogene Nekrose, bei der sich kein geordnetes Bild von, dem histologischen Bild nach, nekrotischen und apoptotischen Zellen ergab. Auch bei dieser Form der Nekrose, die ebenso zentral lokalisiert war, war ein vitaler Randsaum zu erkennen, wie Abbildung 19, 20 und 21 zeigen.



Abbildung 19: Histologie eines Tumors der PDT-Gruppe in der Tumorübersicht

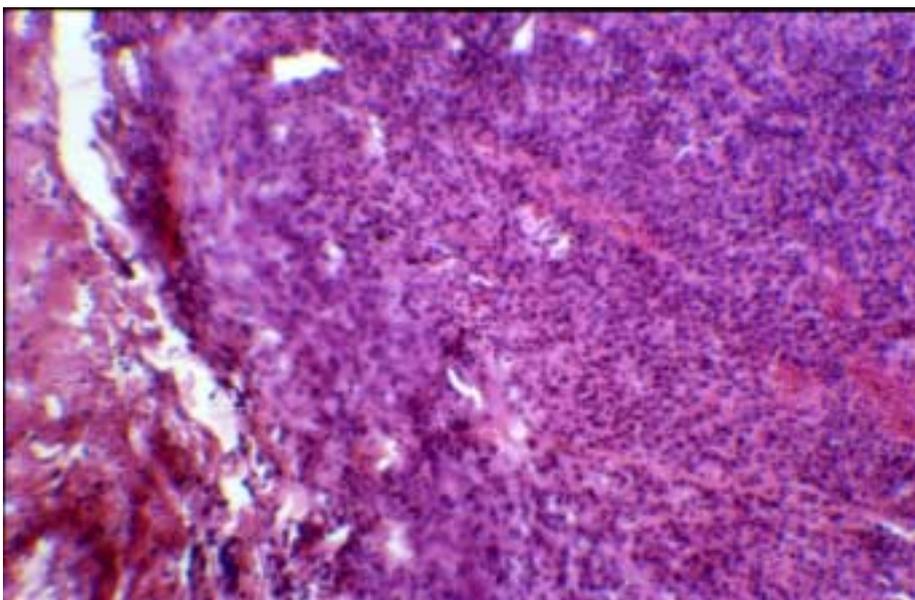


Abbildung 20: Derselbe Tumor in der 20-fachen Vergrößerung

Bei der 20-fachen Vergrößerung kann man einen vitalen Randsaum erkennen, im Zentrum des Tumors herrscht eine 90%ige Nekrose, was auf Abbildung 21 bei der 40-fachen Vergrößerung deutlich wird.

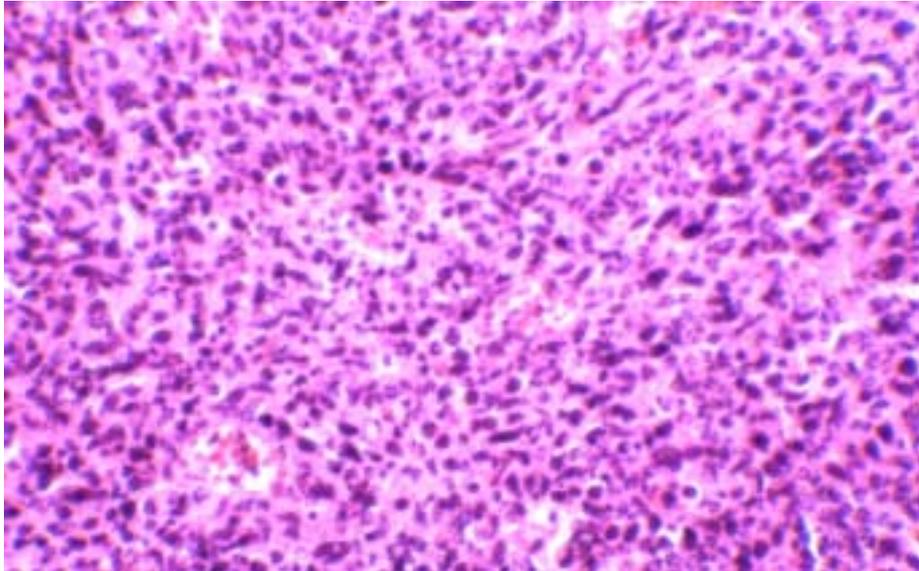


Abbildung 21: 40-fache Vergrößerung:

Weiterhin konnten in einem Präparat vitale Zellen um Blutgefäße, die wie eine Manschette imponierten (Abbildung 22) ausgemacht werden. Bei einem Tier kam es zur Infiltration der Muskulatur, was auf Abbildung 23 zu erkennen ist.

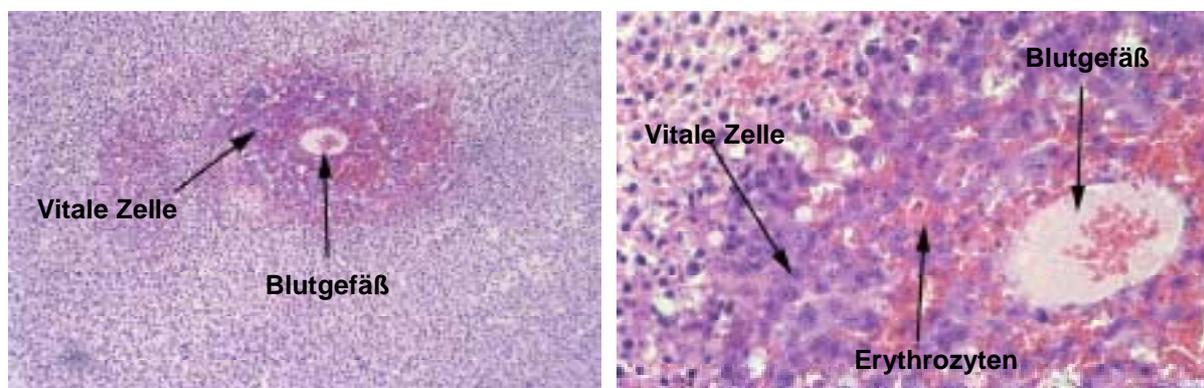


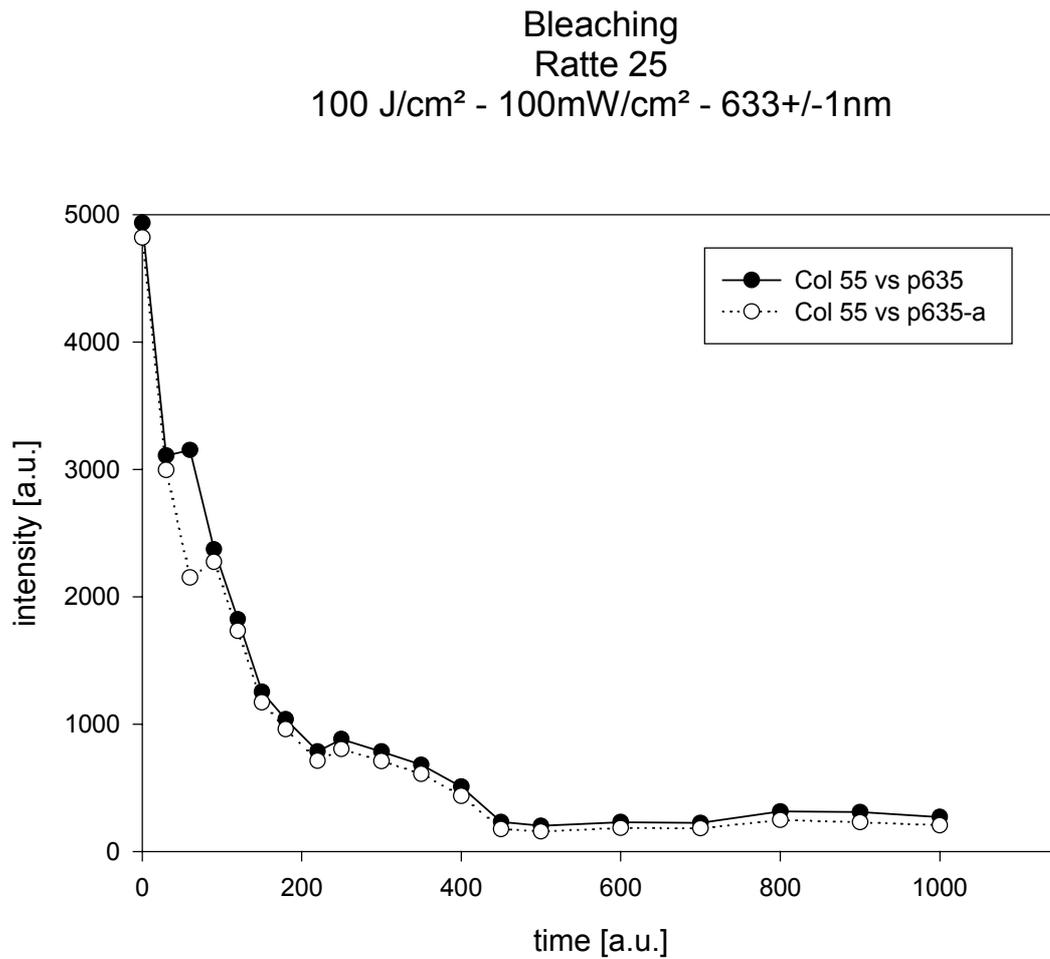
Abbildung 22: Manschettenbildung in 20- und 40-facher Vergrößerung:

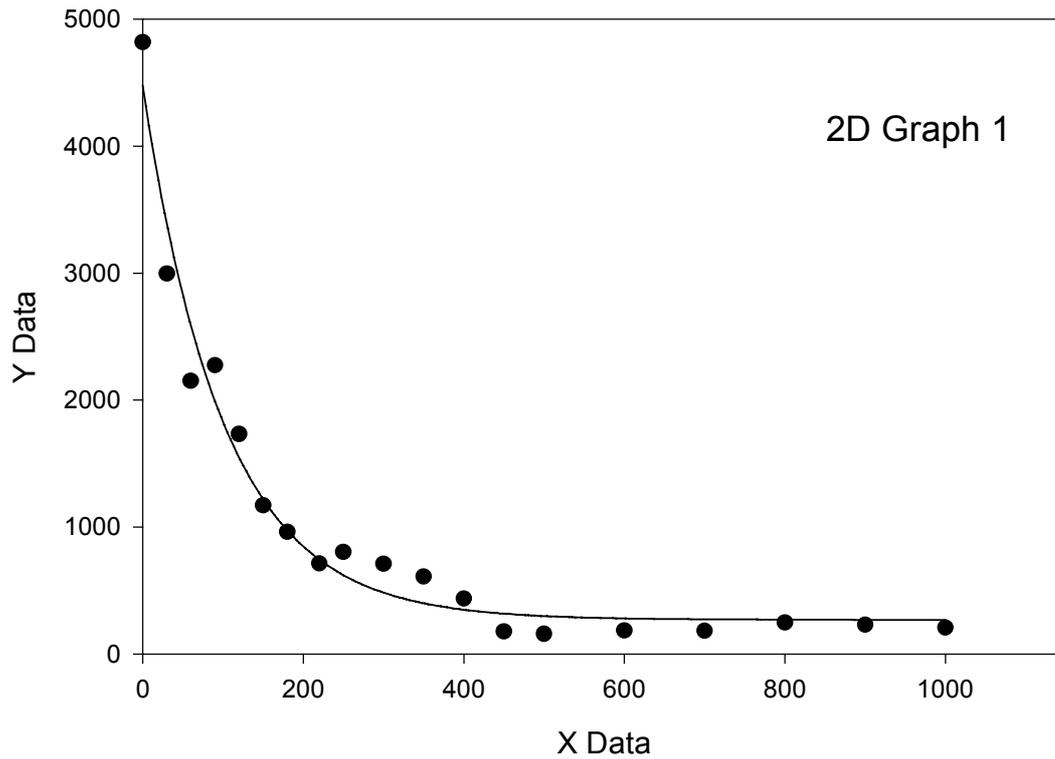


Abbildung 23: Muskelinfiltration von Tumorzellen

### 3.4. Bleachingmessungen

Die Bleachingmessungen wurden als spektrale Intensitätsmessungen während der PDT durchgeführt um den Verbrauch von PPIX während der Therapie zu bestimmen. Abbildung 24 zeigt eine typische Bleaching Kurve.





X Data = Zeit

Y Data = relative Fluoreszenzintensität

Abbildung 24: Bleaching von PPIX während der PDT

Es zeigte sich, dass PPIX nach einem Behandlungszeitraum von 500 Sekunden fast vollständig verbraucht ist. Daher ist auch bei längeren Behandlungszeiten kein weiterer photodynamischer Effekt zu erwarten.

## 4. Diskussion

Die Diskussion zur PDT des Prostatakarzinoms wirft zwei Fragen auf:

- Benötigt man alternative Therapieformen in der Behandlung des Prostatakarzinoms?
- Ist eine PDT mit 5-ALA als alternative Therapie geeignet?

Durch den Einsatz des prostataspezifischen Antigens (PSA) in die Vorsorgeuntersuchung zur Früherkennung eines Prostatakarzinoms ist es in den vergangenen Jahren zu entscheidenden Veränderungen beim Prostatakarzinom gekommen. Die Inzidenz der Prostatakarzinome, vor allem die der organbegrenzten Tumoren, hat durch die sensitivere Diagnostik zugenommen. Ein weiterer Effekt durch die PSA-Bestimmung ist das Absinken des Durchschnittsalters bei der Diagnosestellung [Tumorregister München].

Die therapeutischen Strategien zur Behandlung dieser Tumorerkrankung variieren je nach Alter und Gesundheitszustand der Patienten. Als goldener Standard gilt in Deutschland die radikale Prostatektomie mit Entfernung der Samenbläschen. Diese wird vor allem bei Patienten mit einer Lebenserwartung von mehr als 10 Jahren empfohlen [Leitlinie der DGU 2002]. Allerdings kann dieses Therapieverfahren bei einigen Patienten mit Folgeerscheinungen, wie einer Inkontinenz oder einer erektilen Dysfunktion behaftet sein, die die Lebensqualität beeinträchtigen. Als weitere kurative Therapieform ist die perkutane oder interstitielle Strahlentherapie anerkannt [Breul et al. 2003]. Jedoch sind auch hierbei Komplikationen im Sinne einer Strahlenzystitis oder Strahlenenteritis sowie einer erektilen Dysfunktion zu erwarten. In den letzten Jahren besteht daher eine Suche nach neuen, minimal invasiven Therapieoptionen. Zu diesen Methoden zählen unter anderem thermische Verfahren, wie der Hoch Intensive Fokussierte Ultraschall (HIFU) und die Kryotherapie. Jedoch konnten diese beiden Therapieformen bislang keine suffizienten onkologischen Daten vorweisen, zum anderen zeichnen sich auch diese Therapieverfahren durch eine hohe Rate an Nebenwirkungen aus. Bei der HIFU-Methode konnten PSA-Werte von 0,5 ng/ml oder weniger lediglich bei 40 % der Patienten erreicht werden [Thüroff und Chaussy 2001]. Zu dem wurden Stressinkontinenzen von bis zu 25 % der Fälle beobachtet, was dazu geführt hat, dass der Koagulationsfokus nach medial verlagert

wurde und daher schließmuskelnahe Prostataabschnitte derzeit nicht komplett therapiert werden. Dies erscheint jedoch onkologisch ineffektiv, da das Prostatakarzinom häufig einen multifokalen Ursprung besitzt und in 25 % der Fälle apexnah auftritt [Walsh 2001].

Nach Kryotherapie konnte lediglich bei 80 % der Patienten ein Prostatakarzinom stanzbiologisch ausgeschlossen werden [Sommer et al. 2001]. Aber auch bei der Kryoablation der Prostata waren nicht unerhebliche Nebenwirkungen zu beobachten. So berichteten 90 % der therapierten Männer über eine anhaltende erektile Dysfunktion nach der Kryotherapie, 18 % der Patienten wiesen eine Stressinkontinenz auf und in 15 % der Fälle war eine zusätzliche transurethrale Resektion der Prostata (TUR-P) notwendig [Aus et al. 2002].

Somit konnten die bislang angewandten alternativen Verfahren sowohl onkologisch als auch vom Nebenwirkungsspektrum nicht überzeugen, so dass weiterhin Entwicklungspotenzial für minimal-invasive Verfahren besteht.

Ein weiteres, viel versprechendes minimal-invasives Verfahren stellt die Photodynamische Therapie (PDT) dar.

Die erste, an zwei an einem Prostatakarzinom erkrankten Patienten durchgeführte PDT wurde 1990 von Windahl et al. beschrieben. Als Photosensitizer diente Hämatoporphyrinderivat (HPD). Die PDT wurde nach zweimaliger TUR-P durchgeführt. Bei beiden Patienten sank der PSA-Wert signifikant von 10 bzw. 6  $\text{ng}/\text{ml}$  auf 2,5 bzw. 0,2  $\text{ng}/\text{ml}$  innerhalb von 5 Monaten post PDT. Jedoch ist unklar, ob der PSA-Abfall ein Effekt der PDT war, oder durch die initial durchgeführte TUR-P, durch die schließlich eine komplette Entfernung eines Tumors möglich wäre, hervorgerufen wurde. Eine nach 3 Monaten durchgeführte Stanzbiopsie des Restgewebes der Prostata war in beiden Fällen negativ. Ein Patient verstarb 6 Monate nach PDT an einem Lungentumor. Bei der Sektion wurde das Restgewebe der Prostata histologisch untersucht und wies dabei keinen Anhalt für Malignität auf [Windahl et al. 1990].

Trotz dieser Hinweise auf eine Effizienz dieser Behandlungsmethode konnte sich die PDT im klinischen Alltag bisher nicht durchsetzen. Dies lag vor allem daran, dass die verwendeten Photosensitizer ein hohes Spektrum an systemischen Nebenwirkungen, allen voran die kutane Phototoxizität, aufwiesen und dadurch Grund zur Ablehnung dieses Verfahrens ergaben.

Im Laufe der Jahre wurden jedoch neue Photosensitizer entwickelt, die keine oder nur noch geringe systemische Nebenwirkungen induzieren. Zu diesen Photosensibilisatoren der 2. Generation zählen unter anderem Protoporphyrin IX (PPIX), mTHPC (meso-tetrahydroxyphenyl Chlorin, Foscan®), ein Benzoporphyrinderivat (BPD-MA, Visodyne®), SnET2 (Purlytin) sowie Pd-Bakteriopheophorbid (Tookad®). Die meisten dieser Photosensibilisatoren der II. Generation weisen neben einer hohen Selektivität eine höhere Anregungswellenlänge auf, was mit einer gesteigerten Eindringtiefe des Lichtes in das Gewebe korreliert. Die Wellenlänge zur Anregung von PPIX ist ähnlich dieser von Photofrin.

Über das Potenzial der PDT des Prostatakarzinoms gibt es sowohl tierexperimentelle Studien als auch Untersuchungen am humanen Karzinom [Nathan et al. 2002, Momma et al. 1998, Lee et al. 1997, Chang et al. 1996], jedoch wurden für diese Untersuchungen nicht 5-ALA, sondern andere photosensibilisierende Substanzen, so zum Beispiel mTHPC (Foscan®), SnET2 oder BPD-MA (Visodyne®) als Photosensibilisatoren verwendet. Zur PDT mit 5-ALA induziertem PPIX beim Prostatakarzinom gibt es bisher nur in-vitro Untersuchungen durch Chakrabarti [Chakrabarti et al. 1998], die veröffentlichten in-vivo Studien zur 5-ALA-vermittelten PDT bezogen sich auf maligne Entitäten in anderen Organen, so zum Beispiel auf Blasentumoren [Kriegmair et al. 1995] oder Malignomen im dermatologischen Fachgebiet [Szeimies et al. 2002].

Um eine PDT des humanen Prostatakarzinoms mit 5-ALA in klinischen Studien zu prüfen, müssen jedoch zunächst tierexperimentelle Untersuchungen die Effizienz nachweisen. Dies war die Intention der vorgelegten Dissertationsschrift.

In der abschließenden Diskussion werden nun die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit denen anderer Untersuchungen verglichen.

## 4.1 Pharmakokinetik

Sroka et al. beschrieben 1995 die Pharmakokinetik von 5-ALA-induziertem PPIX für verschiedene Organe [Sroka et al. 1995]. Darunter waren 12 nicht-maligne Organe aber auch ein humanes Adenokarzinom des Kolons in einem heterotopen Tumormodell bei Nacktmäusen. Der Tumor wurde in die Flanke der Mäuse transplantiert. Bei den nicht-malignen Organen lag die Spannweite der maximalen PPIX-Akkumulation zwischen 0,2 Stunden für das nicht-maligne Kolon und 12,6 Stunden für die Trachea. Die maximale Anreicherung von PPIX im Kolonkarzinom lag bei ca. 6 Stunden. Die verabreichte Dosis von 5-ALA betrug  $50 \text{ mg/kg KG}$ . Daraus schlussfolgerte man, dass die maximale Anreicherung von PPIX von dem zu untersuchenden Organ abhängig ist. Gleichermaßen ist die Dauer des Maximums von dem Organsystem abhängig. Der Tumor bei diesen Versuchen hielt am längsten den Maximalwert der PPIX-Fluoreszenz, während andere Gewebe, vor allem das nichtmaligne Kolon, die PPIX-Konzentration zwar am schnellsten an- aber auch am schnellsten wieder abfluteten. Dies wurde auf eine erniedrigte metabolische Aktivität in Tumoren zurückgeführt. Es war weiterhin zu sehen, dass der Tumor die höchste Fluoreszenzintensität zeigte, was auf eine verminderte Aktivität des Enzyms Ferrochelatase in Tumoren und auf einen verminderten Abbau von PPIX zu Häm deutete [Sroka et al. 1995]. Weiterhin ist bekannt, dass die Porphyrinkinetik von der verabreichten Menge an 5-ALA abhängig ist [Fukuda 1992].

Ähnliche Ergebnisse wie Sroka et al. erzielte 1997 die Arbeitsgruppe um Peng. Sie schlussfolgerten ebenso, dass die maximale Anreicherung von PPIX je nach Organ, Tumorgroße, Tumormodell und ALA-Dosis zwischen 3 und 6 Stunden nach systemischer Applikation liegt [Peng 1997].

Eine weitere pharmakokinetische Studie von Sroka et al. an der benignen Hundeprostate konnte eine maximale Fluoreszenzintensität nach 3-4 Stunden nachweisen [Sroka et al. 2003]. Der Verlauf der Fluoreszenzkinetik entspricht dem dieser Studie. In unserem heterotopen Tumormodell für das Prostatakarzinom lag die maximale Anreicherung von PPIX gemittelt zwischen 3 und 4,5 Stunden. Das Maximum konnte für ca. 1,5 Stunden gehalten werden. Ob jedoch eine verminderte Aktivität des Enzyms Ferrochelatase dafür verantwortlich ist, dass die PPIX-Akkumulation für 1,5 Stunden einen Maximalwert halten konnte, sollte in entsprechenden Untersuchungen geprüft werden.

Im Hinblick auf das Ziel, eine PDT am humanen Prostata-Karzinom durchzuführen, gibt es nur wenige Studien zur Pharmakokinetik. In einer in-vivo Studie am Menschen untersuchten 1997 Rick et al. die Pharmakokinetik von 5-ALA-induziertem PPIX in der Haut und dem Blut, nachdem sie 5-ALA auf verschiedene Arten applizierten. In dieser Studie konnten sie zeigen, dass das kutane Intensitätsmaximum von PPIX nach oraler Applikation von  $40 \text{ mg/kg KG}$  5-ALA zwischen 6,5 und 9,8 Stunden lag. Die höchste PPIX-Konzentration im Blutplasma konnte 6,7 Stunden nach oraler Applikation nachgewiesen werden. Die Kinetikkurven nach systemischer Applikation zeigten eine schnelle Anflutung von PPIX in der Haut und im Plasma. Nach Erreichen des Konzentrationsmaximums flutete PPIX kontinuierlich ab [Rick et al. 1997]. Das gleiche kinetische Verhalten konnte in unseren tierexperimentellen Untersuchungen beobachtet werden. In der Studie von Rick et al. sank die PPIX-Fluoreszenzintensität in der Haut innerhalb von 40 Stunden nach Applikation auf Grundniveau. Somit besteht eine kutane Photosensibilisierung nach systemischer Gabe für maximal 40 Stunden.

## 4.2 Lokalisation

Schon in vielen Studien wurde eine hohe Affinität von 5-ALA-induziertem PPIX zu epithelalem Tumorgewebe beschrieben [Zaak et al. 2003, Dougherty et al. 2002, Szeimies et al. 2002, Hillemanns et al. 2000, Gossner et al. 1999, Chakrabarti et al. 1998, Peng et al. 1997, Kriegmair et al. 1996, Kennedy et al. 1992]. Der genaue Mechanismus, der zu der Tumorselektivität von 5-ALA-induziertem PPIX beiträgt, ist jedoch noch nicht genau geklärt. Es scheint jedoch eine multifaktorielle Ursache hierfür verantwortlich zu sein. So kann die Gewebepenetration von 5-ALA in Tumorzellen erhöht sein. Dies kommt dadurch zu Stande, dass die Diffusionsbarriere, die das Eindringen und die interstitielle Verteilung von 5-ALA behindert, in Tumorzellen erniedrigt sein kann. So wird die poröse Keratinschicht bei Basaliomen bei der Fluoreszenzmarkierung als einer der wesentlichen Selektivitätsmechanismen angeführt [Kennedy et al. 1990]. Des Weiteren wird 5-ALA aktiv in die Zelle aufgenommen, da die Anzahl und Aktivität der Kanalproteine in Tumorzellen erhöht sein kann [Steinbach et al. 1995]. Zudem scheinen einige Enzyme der Hämbiosynthese in Tumorzellen eine erhöhte Aktivität zu besitzen, so zum Beispiel das Enzym Porphobilinogendeaminase (PBGD). Dadurch kommt es zu einer vermehrten Bildung von PPIX [Krieg et al. 2000]. Einen weiteren Hauptpunkt stellt auch die erniedrigte Aktivität des Enzyms Ferrochelatase dar, wodurch der Abbau von PPIX zu Häm erniedrigt ist, und es somit zu einer Akkumulation von PPIX kommt [Kondo et al. 1993, del Batlle 1993, El-Sharabasy et al. 1992, Leibovier et al. 1988, Schoenfeld et al. 1988]. Diese Hypothesen können auf der Basis der beschriebenen Erkenntnisse auch für dieses heterotope Tumormodell genutzt werden.

Kinetikuntersuchungen sowie eine Lokalisationsdiagnostik sind unerlässlich für ein Tumormodell. Zur PDT im Tumormodell mit 5-ALA-induziertem PPIX finden sich in der Literatur bislang keine Angaben. Somit musste in eigenen Untersuchungen zunächst geprüft werden, ob der Dunning Tumor PPIX in den Tumorzellen akkumuliert und wann diese Akkumulation einen Maximalwert erreicht. Die Kinetikuntersuchungen zeigen ein Maximum der PPIX-Fluoreszenzintensität nach 3-4,5 Stunden im Tumor. Nach der Resektion der Tumoren in diesem Zeitraum konnten wir in unseren Fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen erkennen, dass sich das 5-ALA-induzierte PPIX ausschließlich in den epithelialen Tumorzellen

---

anreicherte und somit das PPIX auch zum Dunning Tumor eine erhöhte Affinität aufweist. Im angrenzenden Stroma fand sich ausschließlich grüne Autofluoreszenz, die auf stromaeigene Fluorochrome (z.B. NADH, Kollagene, Flavine etc.) zurückzuführen ist.

### 4.3 Photodynamische Therapie

Zur Photodynamischen Therapie des Prostatakarzinoms mit 5-ALA-induziertem PPIX finden sich in der Literatur bislang nur sehr wenige Angaben.

Chakrabarti et al. konnten in ersten in-vitro Untersuchungen die hohe Effektivität der 5-ALA-vermittelten PDT an humanen Prostatakarzinomzelllinien gegenüber Kontrollen demonstrieren. Bei den Prostatakarzinomzelllinien handelte es sich in diesen Untersuchungen um die hormonrezeptor-positive LNCaP-Zelllinie und die hormonrezeptor-negative PC-3-Zelllinie. Diese wurden mit den benignen Prostatazellen der TP-2-Linie verglichen. Die Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass alle drei Zelllinien PPIX speichern, weiterhin dass eine signifikante Erhöhung der PPIX-Akkumulation in allen drei Zellarten im Gegensatz zur basalen PPIX-Konzentration stattfand. Durch die Photodynamische Therapie ließen sich jedoch nur die Karzinomzelllinien abtöten, die benigne Zelllinie jedoch nicht. [Chakrabarti et al. 1998].

Diese Ergebnisse konnten von der Arbeitsgruppe um Momma in einem ähnlichen Versuchsaufbau bestätigt werden [Momma et al. 1997].

Erste Untersuchungen an der benignen Hundprostata von Chang et al. konnten allerdings die positiven Ergebnisse der in-vitro-Versuche nicht bestätigen. Sie verglichen die PDT mit 5-ALA-induziertem PPIX und disulfoniertem Aluminium-Phtahlocyanin (AlS<sub>2</sub>Pc). Nach Applikation von 5-ALA und einer danach durchgeführten PDT der benignen Hundeprostate fanden sich im Gegensatz zu disulfoniertem Aluminium-Phtahlocyanin (AlS<sub>2</sub>Pc) lediglich geringe Nekrosraten. Daraus schlussfolgerten sie, dass die PDT mit 5-ALA keine Behandlungsalternative für Prostataerkrankungen sei [Chang et al. 1997].

Diese Ergebnisse stehen allerdings im Gegensatz zu den Untersuchungen von Sroka et al., die in Ihren Experimenten an der Hundeprostate mit dem gleichen Versuchsaufbau einen eindeutigen Effekt durch eine 5-ALA-induzierte PDT nachweisen konnten [Sroka et al. 2003]. Die Arbeitsgruppe konnte in ihrer in-vivo-Untersuchung zur 5-ALA-induzierten PDT signifikante Nekrosen von max. 12 mm Durchmesser im Rahmen einer PDT bei 635 nm nachweisen. Ähnliche Ergebnisse wie Sroka et al. konnte die Arbeitsgruppe um Johnson, ebenfalls an der Hundeprostate, nachweisen. Sie führten eine transurethrale PDT an der Hundeprostate durch. Als Photosensibilisator verwendeten sie ebenfalls 5-ALA-

induziertes PPIX. In diesen Untersuchungen zeigte sich nach 7 Tagen eine eindeutige Nekrose gegenüber einem Kontrolltier, bei dem keinerlei Veränderungen nachgewiesen werden konnte. Sie schlussfolgerten ebenfalls, dass eine Gewebeerstörung durch eine mit 5-ALA-induzierten PDT möglich ist [Johnson et al. 1995].

Die erste Studie an zwei humanen Prostatakarzinomen wurde 1990 von Windahl et al. durchgeführt. Als Photosensitizer diente Hämatoporphyrinderivat (HPD). Die Arbeitsgruppe konnte einen signifikanten PSA-Abfall innerhalb von 5 Monaten post PDT nachweisen. Eine nach 3 Monaten durchgeführte Stanzbiopsie des Restgewebes der Prostata war in beiden Fällen negativ [Windahl et al. 1990].

Wie die Arbeitsgruppen um Sroka und Johnson zeigen konnten gibt es also Hinweise, dass eine PDT mit 5-ALA-induziertem PPIX einen Effekt auf epitheliales Gewebe der Prostata hat. Die Untersuchungen dieser beiden Arbeitsgruppen wurden jedoch an einem Hundemodell mit benigner Prostata durchgeführt. Es gibt allerdings in der Literatur keine Untersuchungen, die einen Effekt der 5-ALA-induzierten PDT an einem Tumormodell nachweisen. Um eine PDT des Prostatakarzinoms mit 5-ALA in einer klinischen Phase-I/II-Studie zu prüfen, ist es daher notwendig, einen Effekt der 5-ALA-induzierten PDT in einem Prostatakarzinommodell zunächst in tierexperimentellen Untersuchungen nachzuweisen.

Die Ergebnisse in unserem Prostatakarzinommodell konnten eine signifikante Diskrepanz zwischen Versuchstieren und Kontrolltieren nachweisen. Die Nekroserate der 18 Tiere in der PDT-Gruppe, die mit  $100 \text{ J}_{\text{cm}^2}$  behandelt wurden, betrug 100 % ( $94 \pm 12$ ), die 4 Tiere, die mit einer Energiedichte von  $50 \text{ J}_{\text{cm}^2}$  bestrahlt wurden, zeigten Nekrosen im Bereich von 93 % ( $89 \pm 10$ ). Die Kontrollgruppen wiesen lediglich Nekrosen von maximal 8 %, was, wie bei der unbehandelten Kontrollgruppe nachzuweisen war, der Spontannekrose des Dunning-Tumors entspricht. Zudem konnte in den PDT-Gruppen eine deutliche Volumenreduktion der Tumoren 2 Tage nach der Behandlung erzielt werden. Dieser Sachverhalt war auf die PDT und nicht auf eine pharmakologische (5-ALA) oder eine thermische (Energie) Ursache zurückzuführen, da ein signifikanter Volumenunterschied zwischen den Therapiegruppen gegenüber den Hell- und Dunkelkontrollen bestand.

Somit wurde ein eindeutiger therapeutischer Effekt der PDT mit 5-ALA anhand dieses Tumormodells nachgewiesen.

Letztendlich konnte in den Versuchen keine vollständige Nekrose induziert werden. In der histologischen Auswertung der Tumoren konnten vitale Zellen vor allem im Randbereich und in der Nachbarschaft zu Blutgefäßen festgestellt werden. Es wäre möglich, dass diese Zellen nach der PDT durch ihre Nähe zum Blutgefäßsystem weiter proliferierten.

Ferner ist zu beachten, dass in unseren Versuchen ein heterotopes Tumormodell angewandt wurde. Durch die Injektion der Tumorzellen in die Flanke könnte es in den Tumoren zu einer Ausbildung von Septen mit Abgrenzung der Tumoren gekommen sein. Ebenso waren kleinere Blutungen bei der Präparation des Tumors vor der Bestrahlung nicht zu vermeiden, so dass Blutbestandteile den Erfolg der PDT beeinflussen hätten können.

Wie oben beschrieben ist die Effektivität einer PDT von der Konzentration des Photosensibilisators, von der Intensität des Anregungslichtes und von der lokalen Sauerstoffkonzentration abhängig [Lee et al. 1999, Pantelides et al. 1990]. In unseren Versuchen wurden jedoch keine Energie- und Dosis-Wirkung-Beziehungen untersucht, da in diesen Versuchen die antitumorale Effektivität der PDT mit 5-ALA an einem Tumormodell nachgewiesen werden sollte. Im Hinblick auf die Etablierung einer klinischen Phase-I/II-Studie und aufgrund der fehlenden Übertragbarkeit tierexperimenteller Ergebnisse auf den Menschen [Stolzenburg et al. 2001], sollten weiterführende Untersuchungen hinsichtlich der absoluten 5-ALA-Dosis, Position der Lichtwellenleiter und Lichtintensitäten am humanen Karzinom erfolgen.

Des Weiteren ist zu diskutieren, ob 5-ALA induziertes PPIX der geeignete Photosensibilisator zur Durchführung einer PDT darstellt. Wie oben beschrieben ist die Effektivität einer PDT von der Konzentration des Photosensibilisators, der Intensität des Anregungslichtes und der lokalen Sauerstoffkonzentration abhängig. Die beiden Arbeitsgruppen um Pantelides und Lee untersuchten hierfür verschiedene Wellenlängen, um die Eindringtiefe des Laserlichtes in das Gewebe zu bestimmen [Pantelides et al. 1990, Lee et al. 1999]. Sie stellten dabei fest, dass die Gewebepenetration bei höheren Wellenlängen besser ist, als bei niedrigeren. Diese Erkenntnisse würden somit für die Verwendung anderer Photosensitizer, wie etwa mTHPC oder SnET2, sprechen, da bei diesen zur Aktivierung eine höhere Wellenlänge nötig ist. Jedoch sind diese Photosensibilisatoren wiederum mit dem

Nachteil einer längeren kutanen Photosensibilisierung behaftet [Selman et al. 2001 und 1994, Chang et al. 1999].

#### 4.4 Klinischer Ausblick

Wie beschrieben konnte die PDT mit 5-ALA-induziertem PPIX einen signifikanten Effekt im Tumormodell nachweisen. Basierend auf den Ergebnissen des Tiermodells wurden durch unsere Arbeitsgruppe weiterführende klinische Untersuchungen am humanen Prostatakarzinom durchgeführt.

Zunächst wurde eruiert, ob eine PPIX-Anreicherung im humanen Prostatakarzinom stattfindet. Mittels fluoreszenzmikroskopischer Untersuchung wurde in den Prostatektomiepräparaten von Patienten mit einem Prostatakarzinom im Karzinomgewebe eine PPIX-Akkumulation nachgewiesen.

Aufgrund dieser selektiven PPIX-Akkumulation konnte eine Pilotstudie über die Photodynamische Therapie des humanen Prostatakarzinoms an 5 aufgeklärten Patienten durchgeführt werden. Bei allen Patienten kam es innerhalb von 6 Wochen nach der PDT zu einem signifikanten PSA-Abfall [Zaak et al. 2003].

Für eine klinisch suffiziente PDT müssen jedoch noch weiterführende Untersuchungen hinsichtlich der absoluten 5-ALA-Dosis, Position der Lichtwellenleiter und Lichtintensitäten am humanen Karzinom erfolgen, um das optimale Zusammenspiel von 5-ALA-Dosis und Bestrahlung zu erhalten. Da Selektivität und Effektivität klinisch belegt werden konnten, besteht die zentrale Aufgabenstellung bei weiterführenden Entwicklungen in der Herstellung von entsprechenden Lichtapplikationsstrategien.

## 5. Zusammenfassung

Das Prostatakarzinom (PCA) ist die häufigste Krebserkrankung des Mannes in den westlichen Industrienationen (American Cancer Society, 2004), die zweithäufigste krebsbedingte Todesursache in Deutschland und somit die häufigste Todesursache unter allen urologischen Krebserkrankungen [Arbeitsgemeinschaft Bevölkerungsbezogener Krebsregister in Deutschland 2004]. Aufgrund des Einsatzes des PSA-Screenings werden Prostatakarzinome in einem früheren Tumorstadium und auch in einem jüngeren Lebensalter diagnostiziert. Die Zahl der die organüberschreitenden oder metastasierten und damit nicht mehr kurativ heilbaren Tumoren ist dagegen rückläufig [Breul et al. 2001, Jhaveri et al. 1999].

Die Standardbehandlungen mit kurativer Zielsetzung stellen derzeit die radikale Prostatovesikulektomie und die Strahlentherapie der Prostata dar. Diese Therapieverfahren sind jedoch mit Folgeerscheinungen verbunden, wie z.B. einer erektilen Dysfunktion und einer Inkontinenz.

Vor diesem Hintergrund wird derzeit intensiv nach neuen, alternativen Therapieverfahren gesucht. Einen dieser Ansätze stellt die Photodynamische Therapie (PDT) dar.

Photodynamische Therapieverfahren werden bereits mit Erfolg in der Behandlung verschiedener Malignome eingesetzt. Dieser Therapie liegt eine selektive Anreicherung von lokal oder intravenös applizierten Photosensibilisatoren im Tumorgewebe zu Grunde. Die Aktivierung des Photosensibilisators durch Licht einer geeigneten Wellenlänge führt zur Freisetzung von Singulett-Sauerstoff und dadurch zur Tumorzerstörung.

Erste Grundlagenuntersuchungen an Prostatakarzinomzellen sowie Untersuchungen an der benignen Hundeprostate konnten einen Effekt der 5-ALA-induzierten PDT auf epitheliales Prostatagewebe nachweisen [Sroka et al. 2003, Chakrabarti et al. 1998, Johnson et al. 1995]. Ziel dieser Arbeit war es nun, Untersuchungen über die PDT des Prostatakarzinoms (PCA) mit der 5-Aminolävulininsäure (5-ALA) an einem heterotopen Rattentumormodell vorzunehmen.

Durch eine subkutane Injektion von  $10^5$  MatLyLu-Zellen (R3327 Dunning-Tumor; Rattenprostatakarzinom) in die rechte Flanke wurde das PCA bei männlichen Kopenhagen Ratten induziert. Bei einem Tumordurchmesser von ca. 0,5 cm wurden die Versuche durchgeführt.

Nach Präparation der Vena femoralis und anschließender intravenöser 5-ALA Applikation mit einer Menge von  $150 \text{ mg/kg KG}$  wurde die 5-ALA induzierte Protoporphyrin IX (PPIX) Kinetik über einen Zeitraum von 8h mit Messintervallen von 10 Minuten anhand spektraler Intensitätsmessungen (Optical Multichannel Analyzer) ermittelt.

Zur Validierung, dass ausschließlich die Tumorzellen den Photosensibilisator PPIX anreichern und nicht das fibromuskuläre Stroma, das die Tumoren umgab, wurde anhand dieser Kinetikuntersuchung noch eine Lokalisationsdiagnostik nach intravenöser 5-ALA-Gabe durchgeführt. Zum Zeitpunkt der maximalen PPIX-Akkumulation wurden die Tumoren entnommen, in flüssigem Stickstoff eingefroren und mittels Fluoreszenzmikroskopie wurde die PPIX-Anreicherung beurteilt.

Ebenso wurde auf der Basis dieser Kinetik nach systemischer Applikation von 5-ALA eine PDT der Tumoren an 18 Tieren durchgeführt. Das Tumorareal wurde mit dem Licht eines Diodenlasers mit einer Wellenlänge von  $\lambda=635\text{nm}$  und einer Bestrahlungsstärke von  $100 \text{ mW/cm}^2$  respektive  $50 \text{ mW/cm}^2$  homogen ausgeleuchtet. Dabei wurde eine Energiedichte von  $100 \text{ J/cm}^2$  beziehungsweise  $50 \text{ J/cm}^2$  appliziert. 12 Kontrolltieren wurde unter gleichen Versuchsbedingungen entweder nur 5-ALA oder nur Lichtenergie oder weder 5-ALA noch Laserlicht appliziert. 2 Tage nach der PDT wurden die Tumoren reseziert und histopathologisch aufgearbeitet, so dass der prozentuale Nekroseanteil mittels Lichtmikroskopie bestimmt werden konnte.

Die PPIX – Fluoreszenzkinetik belegt eine maximale Anreicherung von PPIX im Tumor 3 bis 4,5 h nach intravenöser Applikation von 5-ALA. Die Lokalisationsdiagnostik konnte zeigen, dass eine selektive Anreicherung des Photosensibilisators PPIX in den Tumorzellen stattfand. Der prozentuale Nekroseanteil betrug 48 h nach PDT in der  $100 \text{ J/cm}^2$ -Gruppe 100 % (Mittelwert  $94 \pm 12 \%$ ) und in der  $50 \text{ J/cm}^2$ -Gruppe 93% ( $89 \pm 10 \%$ ), während in den drei Kontrollgruppen lediglich Nekroseraten von ca. 0-8 % (Mittelwert 6-8%) ( $p<0.01$ ), die

der Spontannekrose rate des R3327 Dunning-Tumors entsprechen, nachgewiesen wurden.

Diese tierexperimentellen Daten konnten erstmals an einem Tumormodell zeigen, dass die PDT mit 5-ALA-induziertem PPIX zu einer signifikanten Nekrose dieses Prostatakarzinoms führt. Diese Ergebnisse stellen die Basis für weiterführende Untersuchungen am humanen Prostatakarzinom dar.

## 6. Literaturverzeichnis

**Adolfson J.:**

Radical prostatectomy, radiotherapy or deffered treatment for localized prostate cancer?

Cancer Surv. 23: 141-148; 1995

**Allhoff EP, Liedke SG, Gonnermann O, Stief CG, Jonas U, Schneider B :**

Efficient pathway for early detection of prostate cancer concluded from a 5-year prospective study.

World J Urol 11 (4): 201-205, 1993

**Altwein JE:**

Prostatakarzinom. Epidemiologie und Ätiologie. in: Uroonkologie. Hrsg: Rübben H. Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 2001

**American Cancer Society:**

What are the key statistics about prostate cancer  
[www.cancer.org/docroot/CRI](http://www.cancer.org/docroot/CRI); revised 08/28/2004

**AUA (American Urological Association):**

Prostate Cancer Clinical Guidelines Panel. Report on the management of clinically localized prostate cancer. American Urological Association, Baltimore.

In: De Vita jr VT, Hellmann S, Rosenberg SA (eds): Cancer. Principles & Practice of Oncology. 5<sup>th</sup> ed. Lipcote-Raven, Philadelphia New York, 1997

**Andriole GL, Smith DS, Rao G, Goodnough L, Catalona WJ:**

Early complications of contemporary anatomical radical retropubic prostatectomy.

J Urol 152: 1858-60, 1994

**Augustin H**, Pummer K, Daghofer F, Habermann H, Primus G, Hubmer G:  
Patient self-reporting questionnaire on urological morbidity and bother after radical  
retropubic prostatectomy.

Eur Urol 42 (2): 112, 2002

**Aus G**, Pileblad E, Hugosson J:

Cryosurgical ablation of the prostate: 5-year follow-up of a prospective study.

Eur Urol 42(2): 133-8, 2002

**Babayan RJ**, Dinney CP, Ramirez EI, Evans RB:

Diagnostic testing for prostate cancer detection: less is best

Urology 41: 421-425, 1993

**Bastacky SS**, Walsh PC, Epstein JI:

Needle biopsy associated tumor tracking of adeno-carcinoma of the prostate.

J Urol. 145: 1003-1007, 1991

**Bates TS**, Wright MP, Gillatt DA:

Prevalence and impact of incontinence and impotence following total prostatectomy  
assessed anonymously by the ICS-male questionnaire.

Eur Urol 33: 165, 1998

**Begg CB**, Riedel ER, Bach PB, Kattan MW, Schrag D, Warren JL, Scardino PT:

Variations in morbidity after radical prostatectomy.

N Engl J Med 346 (15): 1138-44, 2002

**Benson MC**, Whang IS, Olsson CA, McMahon DJ, Cooner WH:

The use of prostate specific antigen density to enhance the predictive value of  
intermediate levels of serum prostate specific antigen.

J Urol 147 (3 Pt 2): 815-816, 1992

**Bolla M**, Collette L, Blank L, Warde P, Dubois JB, Mirimanoff RO, Storme G, Bernier J, Kuten A, Sternberg C, Mattelear J, Torecilla JL, Pfeffer JR, Cutajar CL, Zurlo A, Pierat M:

Long-term results with immediate androgen suppression and external irradiation in patients with locally advanced prostate cancer (an EORTC study): a phase III randomised trial.

Lancet 360: 103-108, 2002

**Bottomley SS**, Müller-Eberhard U:

Pathophysiology of heme synthesis.

Semin Hematol 25: 282-302, 1988

**Boulos MT**, Rifkin MD, Ross J:

Should prostate-specific antigen or prostate-specific antigen density be used as the determining factor when deciding which prostates should undergo biopsy during prostate ultrasound.

Ultrasound Q 17 (3): 177-180, 2001

**Brancaleon L**, Moseley H:

Laser and non-laser light sources for photodynamic therapy.

Laserws Med Sci 17: 173-186, 2002 b

**Breul J**, Paul R, van Randenborgh H, Schmidt J, Hartung R:

Gibt es einen Stadienshift beim Prostatakarzinom ?

Urologe A (Suppl) A: 629, 2001

**Breul J**, Zimmermann F, Dettmar P, Paul R:

Prostatakarzinom. In Urogenitaltumoren. Hrsg.: TZM München

3. Auflage, 2003

**Bunting JR**:

A test of a singlet oxygen mechanism of cationic dye photosensitization of mitochondrial damage.

Photochem Photobiol 55: 81, 1992

**Campbell** GA, Bartels KE, Arnold C, Healey T, Cowell RL, Lucroy MD, Ronn AM:  
Tissue Levels, Histologic Changes and Plasma Pharmacokinetics of meta-Tetra  
(Hydroxyphenyl) Chlorin (mTHPC) in the Cat.

Lasers Med Sci 17 (2): 79-85, 2002

**Carter** BS, Beaty TH, Steinberg GD, Childs B, Walsh PC:

Mendelian inheritance of familial prostate cancer.

Proc Natl Acad Sci USA 89: 3367-71, 1992

**Carter** HB, Pearson JD, Metter EJ et al.:

Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels in men with and without  
prostate disease.

JAMA 267 (16): 2215-2220, 1992

**Catalona** K, Bunner S, Bearer R, Severson RK:

Complications from treatment for prostate carcinoma among men in the Detroit area.

Cancer 95 (1): 82-9, 2002

**Catalona** WJ, Partin AW, Finlay JA, Chan DW, Rittenhouse HG, Wolfert RL,  
Woodrum DL:

Use of percentage of free prostate-specific antigen to identify men at high risk of  
prostate cancer when PSA levels are 2.51 to 4 ng/mL and digital rectal examination  
is not suspicious for prostate cancer: an alternative model.

Urology 54: 220, 1999

**Catalona** WJ, Hudson MA, Scardino PT:

Selection of optimal prostate specific antigen cutoffs for early detection of prostate  
cancer: Receiver Operator Characteristic Curves

J Urol 151: 449 A (abstract 885), 1994

**Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, Scardino PT, Flanigan RC, deKernion JB, Kavoussi R, Dalkin BL:**

Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: early results of a multicenter clinical trial of 6630 men

J Urol 151: 1283-1290, 1994

**Catalona WJ, Basler JW:**

Return of erections and urinary continence following nerve sparing radical retropubic prostatectomy.

J Urol 150 (3): 904-907, 1993

**Catalona WJ:**

Measurement of prostate-specific antigen in serum as screening test for prostate cancer.

N Engl J Med 324: 1156, 1991

**Chakrabarti P, Orihuela E, Egger N, Neal DE, Gangula R, Adesokun A, Motamedi M:**

Delta-aminolevulinic acid-mediated photosensitization of prostate cell lines: implication for photodynamic therapy of prostate cancer.

Prostate 36 (4): 211-8, 1998

**Chang SC, Buonaccorsi GA, MacRobert AJ, Bown SG:**

Interstitial photodynamic therapy in the canine prostate with disulfonated aluminum phthalocyanine and 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX.

Prostate 32: 89-98, 1997

**Chang SC, Buonaccorsi GA, MacRobert AJ, Bown SG:**

Interstitial and transurethral photodynamic therapy of the canine prostate using meso-tetra-(m-hydroxyphenyl) chlorine.

J Cancer 67: 555-562, 1996

**Chang SC**, Chern IF, Hsu YH:

Biological responses of dog prostate and adjacent structures after meso-tetra-(m-hydroxyphenyl) chlorin and aluminum disulfonated phthalocyanine based photodynamic therapy:

Proc Natl Sci Counc Repub China B 23 (4): 158-66, 1999

**Chapelon JY**, Ribault M, Vernier F, Souchon R, Gelet A:

Treatment of localised prostate cancer with transrectal high intensity focused ultrasound.

Eur J Ultrasound 9 (1): 31-8, 1999

**Chapple A**, Ziebland S, Herxheimer A, McPherson A, Shepperd S, Miller R:

Is 'watchful waiting' a real choice for men with prostate cancer? A qualitative study.

BJU Int 90 (3): 257-64, 2002

**Chaussy C**, Thuroff S:

Results and side effects of high-intensity focused ultrasound in localized prostate cancer.

J Endourol 15 (4): 437-40, 2001

**Chen Q**, Hetzel FW.:

Laser dosimetry studies in the prostate.

J Clin Med Surg 16: 9-12; 1998

**Chodak GW**, Thisted RA, Gerber GS, Johansson JE, Adolfsson J, Jones GW, Chisholm GD, Moskovitz B, Livne PM, Warner J:

Results of conservative management of clinically localized prostate cancer.

N Engl J Med 330 (4): 242-8, 1994

**Coakley FV**, Eberhardt S, Kattan MW, Wei DC, Scardino PT, Hricak H:

Urinary continence after radical retropubic prostatectomy: relationship with membranous urethral length on preoperative endorectal magnetic resonance imaging.

J Urol 168 (3): 1032-5, 2002

**Coffey** DS, Smolev J, Heston WD, Scott WW:

Growth characteristics and immunogenicity of the R-3327 rat prostate carcinoma.  
Natl Cancer Inst Monogr (49): 289-91, 1978

**Connolly** JA, Shinohara K, Presti JC, Jr Carroll PR:

Prostate-specific antigen after cryosurgical ablation of the prostate: Defining the appropriate response.

Urol Clin North Am 24: 415-420, 1997

**Crawford** ED, Leewansangtong S, Goktas S, Holthaus K, Baier M:

Efficiency of prostate-specific antigen and digital rectal examination in screening, using 4.0 ng/mL and age specific reference range as a cutoff for abnormal values.

Prostate 38 (4): 296-302, 1999

**D'Amico** AV, Whittington R, Malkowicz SB, Schultz D, Tomaszewski JE, Kaplan I, Berad CJ, Wein A:

Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer.

JAMA 280: 969-974, 1998

**Daniell** MD, Hill JS:

A history of photodynamic therapy.

Aust N Z J Surg. 61: 340-348, 1991

**Dalton** JT, Yates CR, Donghua Y, Straughn A, Marcus SL, Golub AL, Meyer MC:

Clinical pharmacokinetics of 5-aminolevulinic acid in healthy volunteers and patients at high risk for recurrent bladder cancer.

J Pharm Exp Res 301(2):507-512, 2002

**Dalkin** BL, Ahmann F, Southwick P, Bottaccini MR:

Derivation and application of upper limits for prostate specific antigen in men aged 50-74 years with no clinical evidence of prostatic carcinoma.

Br J Urol 76 (3): 346-350, 1995

**Del Batlle AM:**

Porphyrins, porphyrines, cancer and photodynamic therapy – a model for carcinogenesis.

J Photochem Photobiol B 20: 5-22, 1993

**Dhom G:**

Pathologie des Prostata-Carcinoms.

Verh Dtsch Ges Urol 32: 9-16, 1981

**Dhom G:**

Pathologie der Prostata.

In : Hedinger CE, Dhom G (Hrsg) : Pathologie des männlichen Genitale (spezielle pathologische Anatomie, Bd. 21)

Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, 1991

**Diamond I, Granelli SG, McDonagh AF, Nielsen SF, Wilson CB, Jaenicke R:**

Photodynamic therapy of malignant tumors.

Lancet II: 1175, 1972

**Djavan B, Zlotta A, Kratzik C, Remzi M, Seitz C, Schulman CC, Marberger M:**

PSA, PSA density, PSA density of transition zone, free/total PSA ratio and PSA-velocity for early detection of prostate cancer in men with serum PSA 2.5 to 4 ng/ml.

Urology 54: 517, 1999

**Dougherty TJ, Boyle DG, Weishaupt KR, Henderson BA, Potter WR, Bellnier DA, Wityk DA:**

Photoradiation therapy-clinical and drug advances. in: Porphyrin Photosensitization.

Hrsg.: Kessel D, Dougherty TJ,

Plenum Press, New York-London, 13, 1983

**Dougherty TJ, Cooper MT, Mang TS:**

Cutaneous phototoxic occurrences in patients receiving photofrin.

Lasers Surg Med 10: 485, 1990

**Dougherty** TJ, Gomer CJ, Henderson BW, Jori G, Kessel D, Korbelik M, Moan J, Peng Q:

Photodynamic therapy.

J Nat Cancer Inst 90: 889-905, 1998

**Dougherty** TJ:

An update on photodynamic therapy applications.

J Clin Laser Med Surg 20(1): 3-7, 2002

**Dreyer** G:

Lichtbehandlung nach Sensibilisierung.

Dermatol Z 10: 6, 1903

**Dunning** WF:

Prostate cancer in the rat.

Monographs of the National Cancer Institute 12: 351-369, 1963

**El-Sharabasy** MMH, el-Waseef AM, Hafez MM, Salim SA:

Porphyrin metabolism in some malignant diseases.

Br J Cancer 65: 409, 1992

**Endlicher** E, Rummele P, Hausmann F, Krieg R, Knuchel R, Rath HC, Scholmerich J, Messmann H: Protoporphyrin IX distribution following local application of 5-aminolevulinic acid and its esterified derivatives in the tissue layers of the normal rat colon.

Br J Cancer 85 (10): 1572-6, 2001

**Fisher** AMR, Murphree AL, Gomer CJ:

Clinical and preclinical photodynamic therapy.

Lasers in Surgery and Medicine 17: 2-31, 1995

**Gleason** DF:

Classification of prostatic carcinomas.

Cancer Chemother 50: 125-130, 1966

**Gleason DF:**

Histologic grading of prostate cancer: a perspective.

Hum Pathol 23: 273-279, 1992

**Godar D:**

Light and death: photons and apoptosis.

J Inv Dermatology Symposium Proceedings 4: 17-23, 1999

**Goluboff ET, Saidi JA, Mazer S:**

Urinary continence after radical prostatectomy: the Columbia experience.

J Urol 159: 1276, 1998

**Gonzalez S, Arnfield MR, Meeker BE, Tulip J, Lakey WH, Chapman JD, McPhee MS:**

Treatment of Dunning R3327-AT rat prostate tumors with photodynamic therapy in combination with misonidazole.

Cancer Res 46 (6): 2858-62, 1986

**Gossner L, May A, Sroka R, Stolte M, Hahn EG, Ell C:**

Photodynamic destruction of high grade dysplasia and early carcinoma of the esophagus after the oral administration of 5-aminolevulinic acid.

Cancer 86 (10): 1921-8, 1999

**Graham SD jr. et al.:**

Glenn's Urologic Surgery.

5<sup>th</sup> Edition, Lipincott Williams & Williams, Philadelphia New York, 1998

**Hammerer P, Lein M:**

Stellenwert der PSA-Bestimmung zur Früherkennung des Prostatakarzinoms.

Dtsch Arztebl 101 (26): A 1892-.1893, 2004

**Hammerer P, Semjonow A:**

10 years PSA-Chemoprevention.

Urologe A 39 (4): 302-3, 2000

**Han M**, Partin AW, Pound CR, Epstein JI, Walsh PC:

Long-term biochemical disease-free and cancer-specific survival following anatomic radical retropubic prostatectomy. The 15-year Johns Hopkins experience.

Urol Clin North Am 28 (3): 555-65, 2001

**Hautmann RE**, Sauter TW, Wenderoth UK.:

Radical retropubic prostatectomy: morbidity and urinary continence in 418 consecutive cases.

Urology 43: 47-51; 1994

**Helpap B**, Bocking A, Dhom G, Faul P, Kastendieck H, Leistenschneider W, Muller HA:

Classification, histological and cytological grading and assessment of regression grading in prostatic carcinomas. A recommendation of the Pathologic-Urological Task Force on Prostatic Carcinoma. Pathologe 6 (1): 3-7, 1985

**Helpap B**.

Pathologie. in Prostatakarzinom. Hrsg.: Helpap B, Rübber H.

Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York; 1998

**Henderson BW**:

Probing the effects of photodynamic therapy in vivo-in vitro methods. in:

Photodynamic Therapy of Neoplastic Disease. Hrsg.: Kessel, D.

CRC Press Boca Raton Ann Arbor Boston 1: 169, 1990

**Herman MA**, Webber J, Fromm D, Kessel D:

Hemodynamic effects of 5-aminolevulinic acid in humans.

J Photochem Photobiol B 43 (1): 61-5, 1998

**Hillemanns P**, Korell M, Schmitt-Sody M, Baumgartner R, Beyer W, Kimmig R, Untch M, Hepp H:

Photodynamic therapy in women with cervical intraepithelial neoplasia using topically applied 5-aminolevulinic acid.

Int J Cancer 81 (1): 34-8, 1999

**Hillemanns P**, Untch M, Dannecker C, Baumgartner R, Stepp H, Diebold J, Weingandt H, Prove F, Korell M:

Photodynamic therapy of vulvar intraepithelial neoplasia using 5-aminolevulinic acid.

Int J Cancer 85 (5): 649-53, 2000

**Hofstetter A**, Kriegmair M, Baumgartner R:

Evaluation of laser treatment of bladder cancer. in (ed): Lasers in Urologic Surgery.

Hrsg.: Smith JA Chicago, Mosby-Year Book. 1994

**Hofstetter, A**:

Laser in der Urologie.

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York; 1995

**Holmberg L**, Bill-Axelsson A, Helgesen F, Salo JO, Folmerz P, Haggman M, Andersson SO, Spangberg A, Busch C, Nordling S, Palmgren J, Adami HO, Johansson JE, Norlen BJ:

A randomized trial comparing radical prostatectomy with watchful waiting in early prostate cancer.

N Engl J Med 347 (11): 781-9, 2002

**Huland H.:**

Treatment of localised disease.

Committee 7 of the First International Consultation on Prostate Cancer, Monaco, Juni 1996

**Huland H:**

Radical prostatectomy: options and issues.

Eur Urol 39 suppl: 3-9, 2001

**Isaacs** JT, Heston WD, Weissman RM, Coffey DS:

Animal models of the hormone-sensitive and -insensitive prostatic adenocarcinomas, Dunning R-3327-H, R-3327-HI, and R-3327-AT.

Cancer Res 38: 4353-9, 1978

**Isaacs** JT, Coffey DS:

Adaptation versus selection as the mechanism responsible for the relapse of prostatic cancer to androgen ablation therapy as studied in the Dunning R-3327-H adenocarcinoma.

Cancer Res 41: 5070-5, 1981 a

**Isaacs** JT, Yu GW, Coffey DS:

The characterization of a newly identified, highly metastatic variety of Dunning R 3327 rat prostatic adenocarcinoma system: the MAT LyLu tumor.

Invest Urol 19 (1): 20-3. 1981 b

**Isaacs** JT, Isaacs WB, Feitz WF, Scheres J:

Establishment and characterization of seven Dunning rat prostatic cancer cell lines and their use in developing methods for predicting metastatic abilities of prostatic cancers.

Prostate 9 (3): 261-81, 1986

**Jhaveri** FM, Klein EA, Kupelian PA, Zippe C, Levin HS:

Declining rates of extracapsular extension after radical prostatectomy: evidence of a continued stage migration.

J Clin Oncol 17: 3167-72, 1999

**Jichlinski** P, Leisinger HJ:

Photodynamic therapy in superficial bladder cancer: past, present and future.

Urol Res 29 (6): 396-405, 2001

**Johnson S**, Motamedi M, Egger N, Pow-Sang M, Orihuela E, Anderson K, Warren MM:

Photosensitizing the canine prostate with 5-aminolevulinic acid: A new laser prostatectomy?

J Urol (suppl) 153: 298, 1995

**Kager M**, Spruss T, Schneider MR, von Angerer E:

Dunning R3327- prostate carcinoma of the rat: an appropriate model for drug evaluation.

J Cancer Res Clin Oncol 118 (5): 334-338, 1992

**Karrer S**, Szeimies RM, Hohenleutner U, Landthaler M:

Role of lasers and photodynamic therapy in the treatment of cutaneous malignancy.

Am J ClinDermatol 2 (4): 229-37, 2001

**Kennedy JC**, Pottier RH, Pross DC:

Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: Basic principles and present clinical experience

J Photochem Photobiol B Biol 6: 143, 1990

**Kennedy JC**, Pottier RH:

Endogenous protoporphyrin IX, a clinically useful photosensitizer for photodynamic therapy.

J Photochem Photobiol B 14: 275, 1992

**Kopecky AA**, Laskowski TZ, Scott R Jr:

Radical retropubic prostatectomy in the treatment of prostatic carcinoma.

J Urol 103: 641-644, 1970

**Koudinova NV**, Pinthus JH, Brandis A, Brenner O, Bendel P, Ramon J, Eshaar Z, Scherz A, Salomon Y:

Photodynamic therapy with Pd-Bacteriophorbide (Tookad): Successful in vivo treatment of human prostatic small cell carcinoma xenografts.

Int J Cancer 104: 782-789, 2003

**Kundu SD, Roehl KA, Eggener SE, Antenor JAV, Han M, Catalona WJ:**  
Potency, continence and complications in 3477 consecutive radical retropubic prostatectomies.

J Urol 172 (6): 2227-2231, 2004

### **Krebs in Deutschland**

Krebs in Deutschland. 4. überarbeitete, aktualisierte Auflage. Arbeitsgemeinschaft Bevölkerungsbezogener Krebsregister in Deutschland. Saarbrücken, 2004

**Krieg RC, Fickweiler S, Wolfbeis OS, Knuechel R.**

Cell-type specific protoporphyrin IX metabolism in human bladder cancer in vitro.

Photochem Photobiol. 72 (2): 226-33, 2000

**Kriegmair M, Waidelich R, Lumper W, Ehsan A, Baumgartner R, Hofstetter A:**

Integral photodynamic treatment of refractory superficial bladder cancer.

J Urol 154 (4): 1339-41, 1995

**Kriegmair M, Baumgartner R, Lumper W, Waidelich R, Hofstetter A:**

Early clinical experience with 5-aminolevulinic acid for the photodynamic therapy of superficial bladder cancer.

Br J Urol 77 (5): 667-71, 1996

**Labrie F, Candas B, Dupont A, Cusan L, Gomez JL, Suburu RE:**

Screening decreases prostate cancer death: first analysis of the 1988 Quebec prospective randomized controlled trial.

Prostate 38 (2): 83-91, 1999

**Lipson RL, Baldes EJ, Olsen AM:**

The use of a derivative of hematoporphyrin in tumor detection.

J Natl Cancer Inst 26:1-11, 1961

**Lee LK, Whitehurst C, Chen Q, Pantelides ML, Hetzel FW, Moore JV:**

Interstitial photodynamic therapy in the canine prostate.

Br J Urol 80: 898-902, 1997

**Lee** LK, Whitehurst C, Pantelides ML, Moore JV.:

An interstitial laser assembly for photodynamic therapy in prostatic carcinoma.

BJU Int 84: 821-26; 1999

**Löffler** G, Petrides PE.:

Biochemie und Pathobiochemie.

5. Auflage, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York: 512 – 514; 602-604, 1997

**Loh** CS, MacRobert AJ, Bedwell J, Regula J, Krasner N, Bown SG:

Oral versus intravenous administration of 5-aminolaevulinic acid for photodynamic therapy

Br J Cancer 68: 41, 1993

**Luboldt** H, Rübber H:

PSA-based early detection of prostate cancer.

Urologe A 39 (1):22-6, 2000

**Lu-Yao** G, Albertsen PC, Stanford JL, Stukel TA, Walker-Corkery ES, Barry MJ:

Natural experiment examining impact of aggressive screening and treatment on prostate cancer mortality in two fixed cohorts from Seattle area and Connecticut.

BMJ 5; 325(7367): 740, 2002

**Miller** K, Weißbach L:

Leitlinien zur Therapie von Prostatakarzinomen.

Urologe A 38: 630-39, 1999

**Moan** J:

Porphyrin photosensitization and phototherapy.

Photochem Photobiol 43: 681-90, 1986

**Momma T**, Hamblin R, Horace C, Hasan T:

Photodynamic therapy of orthotopic prostate cancer with Benzoporphyrin Derivate:  
Local control and distant metastasis.

Cancer Research 58: 5425-5431, 1998

**Momma T**, Hamblin MR, Hasan T:

Hormonal modulation of the accumulation of 5-aminolevulinic acid-induced  
protoporphyrin and phototoxicity in prostate cancer cells.

Int J Cancer 72: 1062-1069, 1997

**Mostofi FK**, Sesterhenn IA, Sobin LH:

Histological typing of prostate tumors

WHO International Histological Classification, No. 22. WHO, Geneva, 1980

**Nathan TR**, Whitelaw DE, Chang SC, Lees WR, Ripley PM, Payne H, Jones L,  
Parkinson MC, Emberton M, Gillams AR, Mundy AR, Bown SG:

Photodynamic Therapy For Prostate Cancer Recurrence After Radiotherapy - A  
Phase I Study.

J Urol 168: 1427-1432, 2002

**Oleinick NL**, Morris RL, Belichenko:

The role of apoptosis in response to photodynamic therapy: what, where, why, and  
how.

Photochem Photobiol Sci 1: 1-21, 2002

**Pantelides ML**, Whitehurst C, Moore JV, King TA, Blacklock NJ:

Photodynamic therapy for localised prostatic cancer: light penetration in the human  
prostate gland.

J Urol 143: 398-401, 1990

**Paul R**, Breul J, Hartung R:

Spezifität und positiver Vorhersagewert von PSA, PSA-Density, digital rektaler Untersuchung und transrektalem Ultraschall zur Früherkennung des Prostatakarzinoms.

Aktuelle Urologie 26: 164-69, 1995

**Peng Q**, Berg K, Moan J, Kongshaug M, Nesland JM:

5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy: principles and experimental research.

Photochem Photobiol 65 (2): 235-51, 1997a

**Peng Q**, Warloe T, Berg K, Moan J, Kongshaug M, Giercksky KE, Nesland JM:

5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy: clinical research and future challenges.

Cancer 79 (12): 2282-2308, 1997b

**Perron L**, Moore L, Bairati I, Bernard PM, Meyer F:

PSA screening and prostate cancer mortality.

CMAJ 166 (5): 586-91, 2002

**Pollack A**, Zagors GK, Strakoschall G, Antolak JA, Lee JJ, Huang E, von Eschenbach AC, Kuban DA, Rosen I:

Prostate cancer radiation dose response: results of the MD Anderson Phase III randomised trial.

Int J Radiat Oncol Biol Phys 53: 1097-1105, 2002

**Rasetti L**, Rubino GF, Drago W:

Ferrochelatase, 5-ALA-dehydrase und 5-ALA-synthetase activity in human tumour tissue

Panminerva Med. 8:132-135, 1967

**Reed MWR**, Mullins AP, Andersen GL, Miller FN, Wieman TJ:

The effect of photodynamic therapy on tumor oxygenation.

Surgery 106: 94, 1989a

**Riccardo B**, Alberino D, Fabrizio T, Gino C, Simone A, Guido B, Cesare S:  
Free to total prostate specific antigen ratio as a new diagnostic tool in prostatic carcinoma.

Anticancer Res 17 (2B): 1297-1301, 1997

**Rick K**, Sroka R, Stepp H, Kriegmair M, Huber RM, Jacob K, Baumgartner R:  
Pharmacokinetics of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX in skin and blood.

J Photochem Photobiol B 40 (3): 313-9, 1997

**Roach III M**, Lu J, Pilepich MV, Asvell SO, Mohuidden M, Terry R, Grignon D:  
Four prognostic groups predict long-term survival from prostate cancer following radiotherapy alone on Radiation Therapy Oncology Group clinical trials.

Int J Radiat Oncol Biol Phys 47: 609-615, 2000

**Robinson JW**, Moritz S, Fung T:

Meta-analysis of rates of erectile function after treatment of localized prostate carcinoma.

Int J Radiat Oncol Biol Phys 54 (4): 1063-8, 2002

**Rübben H**, Bonkhoff K, Fornara P, Gleißner J, Hammerer P, Hölzel D, Jocham D, Koller M, Kreienberg R, Ligensa C, Lorenz W, Luboldt HJ, Miller K, Pientka L, Schalkhäuser K, Schröder FH, Stieber P, Weißbach L, Wiggen-Kremer A, Wirth M, Wolff J:

Leitlinie PSA-Bestimmung in der Prostatakarzinomdiagnostik (Früherkennung des Prostatakarzinoms).

AWMF-Leitlinie, 2002

**Schwartz K**, Bunner S, Bearer R, Severson RK.:

Complications from treatment for prostate carcinoma among men in the Detroit area.

Cancer 95 (1): 82-9, 2002

**Selman** SH, Albrecht D, Keck RW, Brennan P, Kondo S:

Studies of tin ethyl etiopurpurin photodynamic therapy of the canine prostate.

J Urol 165 (5): 1795-801, 2001

**Selman** SH, Keck RW:

The effect of transurethral light on the canine prostate after sensitization with the photosensitizer tin (II) etiopurpurin dichloride: a pilot study.

J Urol 152: 2129-2132, 1994

**Sheldon** CA, Williams RD, Fraley EE:

Incidental carcinoma of the prostate: A review of the literature and critical reappraisal of classification.

J Urol 124(5): 626-631, 1980

**Smolev** JK, Heston WD, Scott WW, Coffey DS:

Characterization of the Dunning R3327H prostatic adenocarcinoma: an appropriate animal model for prostatic cancer.

Cancer Treat Rep 61 (2): 273-87, 1977

**Sokoll** LJ, Bruzek DJ, Dua R, Dunn W, Mohr P, Wallerson G, Eisenberger M, Partin AW, Chan DW:

Short-term stability of the molecular forms of prostate-specific antigen and effect on percent complexed prostate-specific antigen and percent free prostate-specific antigen.

Urology 60: 24-30,2002

**Sokoloff** MH, Yang XJ, Fumo M, Mhoon D, Brendler CB:

Characterizing prostatic adenocarcinoma in men with a serum prostate specific antigen level of < 4.0 ng/mL.

BJU Int 93 (4): 499-502, 2004

**Sroka R, Beyer W, Gossner L, Sassy T, Stocker S, Baumgartner R:**  
Pharmacokinetics of 5-aminolevulinic-acid-induced porphyrins in tumour-bearing mice.

J Photochem Photobiol B 34 (1): 13-9, 1996

**Sroka R, Muschter R, Knüchel R, Steinbach P, Perlmutter A, Martin T, Baumgartner R:**

5-ALA assisted photodynamic therapy in canine prostates.

SPIE 2671: 324-327, 1996

**Sroka R, Zaak D, Höppner M, Muschter R, Knüchel R, Perlmutter A, Hofstetter A:**

In-vivo investigations of photodynamic therapy by means of 5-ALA induced PPIX on canine prostates.

Med Las Appl 18: 87-90, 2003

**Steinbach P, Weingandt H, Baumgartner R, Kriegmair M, Hofstädter F, Knüchel R:**

Cellular fluorescence of the endogenous photosensitizer protoporphyrin IX following exposure to 5-aminolevulinic acid.

Photochem Photobiol 62: 887-895, 1995

**Stepp H:**

5-ALA-Biophysics. in: Fluorescence Diagnosis of Bladder Tumors – Fundamentals and Results. Hrsg.: Baumgartner R, Kriegmair M, Hofstetter A.

Endo-Press, Tuttlingen, 37-48, 1998

**Stief CG:**

Apical dissection during radical retropubic prostatectomy without ligature

World J Urol 21 (3): 139-43, 2003

**Stocker S, Knuchel R, Sroka R, Kriegmair M, Steinbach P, Baumgartner R:**

Wavelength dependent photodynamic effects on chemically induced rat bladder tumors following intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid.

J Urol 157 (1): 357-61, 1997

**Stolzenburg** JU, Truss MC, Do M, Rabenalt R, Pfeiffer H, Dunzinger M, Aedtner , Stief CG, Jonas U, Dorschner W:

Evolution of endoscopic extraperitoneal radical prostatectomy (EERPE) – technical improvements and development of a nerve-sparing, potency-preserving approach.

World J Urol 21 (3): 147-52, 2003

**Stummer** W, Stocker S, Novotny A, Heimann A, Sauer O, Kempf O, Plesnila N, Wietzorrek J, Reulen HJ:

In vitro and in vivo porphyrin accumulation by C6 glioma cells after exposure to 5-aminolevulinic acid.

J Photochem Photobiol B 45 (2-3): 160-9, 1998

**Stuschke** M, Budach V, Böhmer D

Strahlentherapie des Prostatakarzinoms.

Dtsch Arztebl 101: A 2690-2694, 2004

**Sweat** SD, Bergstralh EJ, Slezak J, Blute ML, Zincke H:

Competing risk analysis after radical prostatectomy for clinically nonmetastatic prostate adenocarcinoma according to clinical Gleason score and patient age.

J Urol 168 (2): 525-9, 2002

**Szeimies** RM, Landthaler M:

Photodynamic therapy and fluorescence diagnosis of skin cancers.

Recent Results Cancer Res 160: 240-5, 2002

**Tappeiner** Hv, Jesionek D:

Therapeutische Versuche mit fluoreszierenden Stoffen

Münchener Medizinische Wochenschrift 50: 2042-44, 1903

**Thüroff** S, Chaussy C:

Therapy of local prostatic carcinoma with high intensity focussed ultrasound (HIFU). Outcome and side-effects.

Urologe A 40 (3): 191-4, 2001

**Tumorregister München.**

Jahresbericht 2000. Schwerpunkt: Ösophagus, Magen, Prostata.  
W. Zuckschwerdt Verlag, 2001

**UICC:**

TNM Klassifikation maligner Tumoren.  
Hrsg. Wittekind C und Wagner G. 6. Auflage  
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg New York, 2002

**Vrouenraets** MB, Visser GW, Stigter M, Oppelaar H, Snow GB, van Dongen GA:  
Comparison of aluminium (III) phthalocyanine tetrasulfonate- and meta-tetrahydroxyphenylchlorin-mono-clonal antibody conjugates for their efficacy in photodynamic therapy in vitro.  
Int J Cancer 98 (5): 793-8, 2002

**Waidelich** R, Stepp H, Baumgartner R, Weninger E, Hofstetter A, Kriegmair M:  
Clinical experience with 5-aminolevulinic acid and photodynamic therapy for refractory superficial bladder cancer.  
J Urol 165: 1904-7, 2001

**Walsh PC:**

Editorial Comment: Minimally invasive treatment of prostate cancer.  
J Endourology 15: 447-48, 2001

**Walsh PC:**

Anatomic Radical Retropubic Prostatectomy. In Campbell's Urology. Ed.: Walsh PC. 7<sup>th</sup> edition. WB Saunders Company. Philadelphia; 1998

**Walsh PC, Epstein JI, Lowe FC:**

Potency following radical prostatectomy with wide unilateral excision of the neurovascular bundle.  
J Urol 138: 823, 1987

**Webber J, Kessel D, Fromm D:**

Side effects and photosensitization of human tissues after aminolevulinic acid.

J Surg Res 15; 68(1): 31-7, 1997

**Wilson BC:**

Photodynamic therapy for cancer: principles.

Can J Gastroenterol 16(6): 393-6, 2002

**Windahl T, Andersson SO, Lofgren L:**

Photodynamic therapy of localised prostatic cancer.

Lancet 336 (8723):1139; 1990

**Wirth M:**

Therapie des lokal begrenzten Prostatakarzinoms. in Prostatakarzinom. Hrsg.:  
Helpap B, Rübben. H.

Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York; 1998

**Wirth M, Otto T, Rübben H.:**

Zusammenstellung über das Prostatakarzinom.

Version vom 05.10.99

**Zaak D, Knuechel R:**

Clinical Results Of 5-ALA-Induced Fluorescence. in: Fluorescence Diagnosis of  
Bladder Tumors – Fundamentals and Results. Hrsg.: Baumgartner R, Kriegmair M,  
Hofstetter A.

Endo-Press, Tuttlingen, pp. 37-48, 1998

**Zaak D, Hungerhuber E, Schneede P, Stepp H, Frimberger D, Corvin S, Schmeller  
N, Kriegmair M, Hofstetter A, Knüchel R:**

Role of 5-aminolevulinic acid in the detection of urothelial premalignant lesions.

Cancer 95(6):1234-8, 2002a

---

**Zaak D**, Stepp H, Baumgartner R, Schneede P, Waidelich R, Frimberger D, Hartmann, Knüchel R, Hofstetter A, Hohla A:  
Ultraviolet-excited (308nm) autofluorescence for bladder cancer detection.  
Urology 60 (6): 1029-1033, 2002b

**Zaak D**, Sroka R, Stocker S, Höppner M, Knüchel R, Lein M, Hofstetter A:  
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Photodynamischen Therapie des  
Prostatakarzinoms mit 5-Aminolävulinsäure-induziertem Protoporphyrin IX.  
Urologe A 41: 8, 2002

**Zaak D**, Sroka R, Höppner M, Khoder W, Reich O, Tritschler S, Muschter R, Knüchel R, Hofstetter A:  
Photodynamic therapy by means of 5-ALA induced PPIX in human prostate cancer-  
preliminary results.  
Med Las Appl 18: 91-95, 2003

## 7. Lebenslauf

### Persönliche Daten:

|                |                            |
|----------------|----------------------------|
| Name:          | Michael Johannes Höppner   |
| Geburtstag:    | 16. Juni 1975              |
| Geburtsort:    | Ludwigshafen/Rhein         |
| Familienstand: | ledig                      |
| Nationalität:  | deutsch                    |
| Konfession:    | katholisch                 |
| Eltern:        | Vater: Günter Höppner      |
|                | Mutter: Rosa-Maria Höppner |

### Schulische Ausbildung:

|            |                         |
|------------|-------------------------|
| 1982-1986: | Grundschule Bad Saulgau |
| 1986-1995: | Gymnasium Bad Saulgau   |

### Bundeswehr:

|            |   |
|------------|---|
| Seit 1995: | Sanitätsoffizieranwärter der Bundeswehr |
|------------|---|

### Universitäre Ausbildung:

|            |  |
|------------|--|
| 1996-1998: | Vorklinik der Humanmedizin an der Universität Regensburg |
| 1998-2003: | Klinische Ausbildung der Humanmedizin an der LMU München |
| 1998:      | Physikum   |

---

|       |                 |
|-------|-----------------|
| 1999: | 1. Staatsexamen |
| 2002: | 2. Staatsexamen |
| 2003: | 3. Staatsexamen |

**Praktisches Jahr:**

|                  |   |
|------------------|---|
| 04/2002-07/2002: | Urologische Klinik und Poliklinik der<br>Universität München<br>Prof. A. Hofstetter<br>Klinikum Großhadern            |
| 08/2002-11/2002: | Chirurgische Klinik und der Universität<br>München<br>Prof. F. Schildberg / Prof. K.W. Jauch<br>Klinikum Großhadern   |
| 12/2002-03/2003: | Medizinische Klinik, Abteilung<br>Diabetologie und Endokrinologie<br>Prof. E. Standl<br>Krankenhaus München Schwabing |

**Berufliche Ausbildung:**

|               |   |
|---------------|---|
| Seit 04/2003: | Klinik für Urologie<br>PD. C. Sparwasser<br>Bundeswehrkrankenhaus Ulm |
|---------------|---|

## 8. Anhang

### 8.1. Materialliste und Bezugsquellennachweis

#### 8.1.1. Versuchstiere

Für die Experimente des in vivo Tumormodells wurden männliche Kopenhagen-Ratten in einem Alter von 2 Monaten und einem Körpergewicht von 200 – 250 Gramm verwendet, die von der Firma Charles River GmbH (Sulzfeld, Deutschland) bezogen wurden. Diese Spezies ist als Standardtiermodell für den Dunning Tumor etabliert und ist die gleiche, aus der 1961 von J.W. Dunning der Originaltumor, aus dem die Mat-LyLu-Zelllinie entstand, hervorgebracht wurde [Dunning 1961, Isaaks 1986].

#### 8.1.2. Tumorzellinjektion

Die Tumorzellen wurden in die rechte Flanke von anästhesierten Ratten injiziert. Das dafür benötigte Material setzte sich wie folgt zusammen:

|   |                                   |
|---|-----------------------------------|
| <b>Isoflurannarkose:</b>                          |                                   |
|   |                                   |
| Narkosegerät Titus mit Isofluran-Vaporisator 19.3 | Dräger Medizintechnik, Lübeck     |
| Narkosegas Forene                                 | Fa. Abbott GmbH, Wiesbaden        |
|   |                                   |
| <b>Sonstige Materialien:</b>                      |                                   |
|   |                                   |
| 1 ml Spritze Plastipak                            | Becton Dickinson GmbH, Heidelberg |
| Rasierapparat Monomed Rasierer                    | Fa. Dahlhausen, Köln              |

## 8.1.3. Pharmakokinetische Untersuchungen

Neben den schon oben erwähnten Materialien wurden für die Pharmakokinetik folgende Materialien verwendet, die aus der 5-ALA-Herstellung, der operativen Freilegung des Tumors und der Vena femoralis zur Injektion von 5-ALA und der Messung der Pharmakokinetik von 5-ALA resultierten:

|  |   |
|--|---|
| <b>Venenkatheter:</b>                            |   |
|  |   |
| UDS-Kanülen G30, kurz 0,3 x 25 mm                | Fa. Höchst AG, Frankfurt/Main             |
| Silikonschlauch, Ø 0,28 mm                       | Fa. SIMS, Portex, UK                      |
|  |   |
| <b>5-ALA-Herstellung:</b>                        |   |
|  |   |
| 5-ALA-Hydrochlorid                               | Medac GmbH, Wedel                         |
| PBS (Phosphate Buffered Saline), Stammlösung 10x | Apotheke Klinikum Innenstadt, München     |
| Waage MC1 Research RC 210 P                      | Fa. Sartorius,                            |
| Reagenzgläser 50 ml Falcon                       | Fa. Greiner                               |
| Pipette 5 ml Falcon                              | Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA |
| Pipetboy acu                                     | Integra Biosciences                       |
| Alufolie Melitta Toppits                         | Melitta                                   |
|  |   |
| <b>Pharmakokinetik:</b>                          |   |
|  |   |
| Cystoskop 0° Hopkins Optik                       | Fa. Storz, Tuttlingen                     |
| D-Light  | Fa. Storz, Tuttlingen                     |
| Optical Multichannel Analyser                    | SI – Spectroscopy and Imaging GmbH        |
| Lichtwellenleiter HCN 600                        |   |
| Computerprogramm                                 |   |
| Leistungsmessgerät                               | Labmaster, Coherent, Dieburg, Deutschland |
|  |   |

|                                |   |
|--------------------------------|---|
| <b><u>Operativer Teil:</u></b> |   |
|                                |   |
| Disposable Scalpel Nr. 20      | Feather Safety Razor Co. über Produkte für die Medizin AG, Köln |
| Schere                         | Fa. Aesculap, Tuttlingen  |
| Pinzette chirurgisch           | Fa. Aesculap, Tuttlingen  |
| Pinzette anatomisch            | Fa. Aesculap, Tuttlingen  |
| Klemmchen                      | Fa. Aesculap, Tuttlingen  |
| Nadelhalter                    | Fa. Aesculap, Tuttlingen  |
| Nahtmaterial 3-0 Prolene       | Fa. Ethicon, Johnson & Johnson,                                 |
| Waage BP 2100                  | Fa. Sartorius   |
| Stereoskop Leica MZ 6          | Fa. Leica, Wetzlar  |

Da die 5-ALA sehr licht- und temperaturempfindlich ist wurde das Pulver in einer braunen Flasche in einem Kühlschrank bei ca. 4°C aufbewahrt. Die aus diesem Pulver gefertigte 5-ALA-Lösung wurde direkt vor Gebrauch hergestellt und sofort in Alufolie eingewickelt, damit kein Licht an diese kommt und zusätzlich in einem lichtgeschützten Schubfach aufbewahrt, bis die Versuche eines Tages beendet und abgeschlossen waren. Danach wurde die übrig gebliebene Lösung verworfen.

#### 8.1.4. Lokalisationsdiagnostik

Um von den Tumoren Gefrierschnitte anzufertigen, um die Lokalisation von PPIX nachzuweisen, wurden zusätzlich für diesen Arbeitsschritt folgende noch nicht erwähnte Materialien und Maschinen verwendet:

|                           |  |
|---------------------------|--|
| Flüssiger Stickstoff      |  |
| Plastikplättchen Cryomold | Cryomold by Tissue – tec, Miles Inc., Elkhart, IN, USA |
| Tissue – tec              | Miles Inc., Elkhart, IN, USA                           |
| Alufolie Melitta Toppits  |  |
| Gefrierschrank            | Fa. Liebherr   |

|                               |                    |
|-------------------------------|--------------------|
| Gefriermikrotom Leica CM 3050 | Fa. Leica, Wetzlar |
| Objektträger                  |                    |
| Fluoreszenzmikroskop Leica    | Fa. Leica, Wetzlar |

#### 8.1.5. Photodynamische Therapie

Für die photodynamische Therapie und für die histologische Aufarbeitung der Tumore der Therapie- und Kontrollgruppen waren folgende Materialien nötig:

|                                    |                             |
|------------------------------------|-----------------------------|
| Laser CeraLas PDT 633              | Fa. BioLitec                |
|                                    |                             |
| <b>Histologische Aufarbeitung:</b> |                             |
|                                    |                             |
| Formaldehyd 4%                     | Fa. Fisher, Saarbrücken     |
| Einbettautomat Hypercenter XP      | Fa. Shandon, Frankfurt/Main |
| Einbettkassetten                   | Fa. Shandon, Frankfurt/Main |
| Rotationsmikrotom Jung Biocut 2035 | Fa. Leica, Wetzlar          |
| Heizplatte Histo Plate             | Fa. Jung                    |
| Wasserbad Leica HI 1210            | Fa. Leica, Frankfurt/Main   |
| Objektträger                       |                             |
|                                    |                             |

Zur Dokumentation der Histologie entfernter Tumore wurden Farbphotos mit einer Spiegelreflexkamera für jede Vergrößerung angefertigt und von einem Pathologen beurteilt.

#### 8.1.6. Sonstige Materialien

|  |   |
|--|---|
| 5 ml Spritze Inkjet 5 ml   | Fa. Braun, Melsungen                        |
| Microlance 3, 21 x 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> " Nr.2, 0,8 x 40 mm | Becton Dickinson, Heidelberg                |
| Isotone NaCl-Lösung 0,9% Braun                                       | Fa. Braun, Melsungen                        |
| Biogel Super Sensitive 7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>                 | Fa. Regent, Broxbourne, UK; Greenville, USA |

---

|                                  |  |
|----------------------------------|--|
| X-ray Präpariertupfer 12 x 12 cm | Noba Verbandmittel, Danz GmbH,<br>Wetter-Wengern |
| Ether Ph. Eur                    | Hedinger GmbH, Stuttgart                         |
| Vernichtungsbeutel Plastibrand   | Fa. Brand  |
|                                  |  |

Die nach den Versuchen mit einer Überdosis Äther getöteten Tiere wurden in die Vernichtungsbeutel eingepackt und in der Tierverbrennungsanlage gesondert entsorgt.

**8.2. Abkürzungsverzeichnis**

|          |   |
|----------|---|
| 5-ALA    | 5 Aminolävulinsäure, Ausgangssubstrat der Hämbiosynthese  |
| AJCC     | American Joint Committee on Cancer  |
| AUA      | American urological association; amerikanische Urologenvereinigung  |
| BPD-MA   | B-Porphyrinderivat; ein Photosensibilisator der 2. Generation   |
| BPS      | benignes Prostatasyndrom  |
| DGU      | Deutsche Gesellschaft für Urologie  |
| DRU      | Digitale rektale Untersuchung   |
| Gy       | Gray; Maßeinheit in der Strahlentherapie  |
| HIFU     | High intensed focussed Ultrasound (hoch intensivierter fokussierter Ultraschall); ein Alternativverfahren in der Behandlung des Prostatakarzinoms |
| HPD      | Hämatoporphyrinderivat; ein Photosensibilisator der 1. Generation   |
| mTHPC    | meso-tetrahydroxyphenyl Chlorin, Foscan®; ein Photosensibilisator der 2. Generation   |
| NADH     | Nicotinamidadenindinukleotid  |
| PBGD     | Porphobilinogendeaminase; Enzym in der Hämbiosynthese   |
| PBS      | phosphate buffered saline, Pufferlösung auf Kochsalzbasis   |
| PCA      | Prostatakarzinom  |
| PDT      | Photodynamische Therapie, ein Alternativverfahren in der Behandlung des Prostatakarzinoms   |
| PPIX     | Protoporphyrin IX, ein Zwischenprodukt der Hämbiosynthese, Photosensibilisator der 2. Generation  |
| PSA      | Prostata-spezifisches Antigen   |
| SnET2    | Zinn Ethyl Etiopurpurin (Photosensibilisator)   |
| TierSchG | Tierschutzgesetz  |
| TNM      | Stadieneinteilung von Tumoren nach UICC   |

---

|       |                                       |
|-------|---------------------------------------|
| TRUS  | Transrektaler Ultraschall             |
| TUR-P | Transurethrale Resektion der Prostata |
| UICC  | Union international contre le cancer  |
| WHO   | Weltgesundheitsorganisation           |