

Aus dem Klinikum der Universität München
Urologische Klinik und Poliklinik – Großhadern
Direktor: Prof. Dr. med. Christian G. Stief

Untersuchungen zur Photodynamischen Therapie des humanen
Prostatakarzinoms mit 5-Aminolävulinsäure induziertem
Protoporphyrin IX

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

Vorgelegt von Wael Y. Khoder
aus Menoufiya / Ägypten

2005

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv -Doz. Dr. med. D. ZaaK

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. A. Schilling

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 13.10.2005

Diese Arbeit möchte ich meinen Eltern und meiner Familie widmen,

*weil meine Eltern immer ein großes Vorbild für mich waren
weil meine Frau stets eine große Hilfe für mich war
und weil ich meinem geliebten Sohn, Nader, alles Glück der Welt für seine
Zukunft wünschen möchte.*

A Inhaltsverzeichnis

1.	Einführung	6
1.1.	Das Prostatakarzinom	6
1.1.1.	Epidemiologie	6
1.1.2.	Ätiologie	6
1.1.3.	Histologie	8
1.1.4.	Stadieneinteilung	10
1.1.5.	Diagnostik	11
1.1.6.	Therapie des lokal begrenzten PCA (pT1-3)	13
1.2.	Photodynamische Therapie	16
1.2.1.	Einleitung	16
1.2.2.	Mechanismen	16
1.2.3.	Photosensibilisatoren	18
1.2.4.	Lichtquellen	20
1.3.	Photodynamische Therapie des Prostatakarzinoms	21
2.	Studienziele	23
3.	Material und Methoden	24
3.1.	Untersuchungen zur PPIX-Lokalisation im humanen Karzinom	24
3.1.1.	Patienten	24
3.1.2.	5-Aminolevulinsäure (5-ALA)	26
3.1.3.	Versuchsablauf	27
3.1.4.	Nebenwirkungen und Komplikationen	28
3.2.	Photodynamische Therapie bei Patienten mit einem Prostatakarzinom	29
3.2.1.	Patienten	29
3.2.2.	Lasersystem, Lichtapplikationssystem und Lichtdosimetrie	30
3.2.3.	5-Aminolävulinsäure (5-ALA)	32
3.2.4.	Versuchsablauf	32
3.2.5.	Auswertung und Beurteilung der Befunde	36

3.2.6.	Nebenwirkungen und Komplikationen	36
4.	Ergebnisse	37
4.1.	PPIX-Lokalisation	37
4.2.	Photodynamische Therapie bei Patienten mit einem Prostatakarzinom	41
4.2.1.	Intraoperative PDT	41
4.2.2.	Transurethrale PDT	41
4.2.3.	Perineale PDT	43
4.2.4.	Nebenwirkungen	44
5.	Diskussion	45
6.	Zusammenfassung	54
7.	Literaturverzeichnis	57
8.	Danksagung	70
9.	Lebenslauf	71

1. Einführung

1.1. Das Prostatakarzinom

1.1.1. Epidemiologie

Das Prostatakarzinom (PCA) gehört bei den Männern neben den Malignomen der Haut und den Malignomen der Luftröhre, der Bronchien und der Lunge zu den häufigsten Krebserkrankungen in den westlichen Industrienationen (American Cancer Society 2004).

Untersuchungen des Tumorzentrums München haben gezeigt, dass in den letzten Jahren die Inzidenz des PCA in der männlichen Bevölkerung um 50 % zugenommen hat [Tumorregister München 2000].

1.1.2. Ätiologie

Die kausale Pathogenese des PCA ist unbekannt. Als mögliche Faktoren bei der Entstehung des Prostatakarzinoms werden mehrere Ursachengruppen angeführt.

1.1.2.1. Ursachen für die Entstehung des Prostatakarzinoms

Altersbedingte Ursachen

Die Prävalenz des Prostatakrebses nimmt mit dem Alter zu. Bei über 50-Jährigen steigt sowohl die Inzidenz als auch die Sterblichkeitsziffer des PCA in einer nahezu exponentiellen Kurve [Wingo et al.1995].

Ethnographische Ursachen

Am häufigsten erkranken Männer aus der schwarzen Bevölkerung in Nordamerika, deren Inzidenzraten ca. 30mal höher liegen als bei asiatischen Männern [Landis et al. 1998, Pienta et al. 1995].

Diätetische Ursachen

Whittemore und Mitarbeiter fanden bei ihren Untersuchungen in der schwarzen und weißen Bevölkerung der USA Hinweise auf negative Einflüsse von fettreicher und faserarmer Kost auf die Inzidenz des PCA [Whittemore et al. 1995].

Genetische Ursachen

Meikle und Mitarbeiter konnten zeigen, dass Brüder von Prostatakarzinompatienten, die im 7. Lebensjahrzehnt erkrankten eine 4 mal höhere

Inzidenz haben an einem PCA zu erkranken, gegenüber Männern im gleichen Alter ohne familiäre Vorgeschichte eines PCA [Meikle et al. 1985].

Hormonelle Ursachen

Testosteron ist für ein physiologisches Wachstum des Prostataepithels notwendig (Montie und Pienta 1994). Ein veränderter Testosteronstoffwechsel, sowie andere Hormone, insbesondere Prolactin und Östrogen [Wynder et al 1984], könnten eine Rolle bei der Entstehung des PCA spielen.

Schließlich werden erhöhte Risiken bei Schwermetallexposition, speziell bei Kadmuim, gefunden. Bei weiteren möglichen pathogenetischen Faktoren, wie der operativen Unterbindung der ableitenden Samenwege (Vasektomie), einem erniedrigten Östrogenspiegel, z.B. bei Zirrhotikern, viralen (Herpesviren Typ II) Infektionen, Nikotinabusus und Strahleneinflüssen konnte kein signifikanter Einfluss auf die Entstehung des PCA nachgewiesen werden [Altwein 2001, Chacko et al. 2002].

1.1.2.2. Mögliche molekulare Ursachen

Mutationen der Stammzelllinie

Je kürzer die Länge der Micro-Satelliten in der Position 5 ist, welche die Promotorregion des Androgenrezeptorgens darstellt, desto sensitiver reagiert die Zelle auf Androgene. Dies fördert wiederum das Wachstum eines Prostatakarzinoms [Kennth und Pienta 1998].

Verlust an Tumorsuppressionen

Bei nahezu 70% von Patienten mit klinisch lokalisiertem PC kann eine Deletion auf Chromosom 8P22 nachgewiesen werden [Macoska et al.1994]. 36% von jenen mit lokalisierten und 60% mit metastasierten Tumoren zeigten Deletionen auf Chromosom 16q [Isaacs et al.1986].

Androgenrezeptormutationen

Ungefähr 50% der PCA Patienten mit Knochenmetastasen mit androgenunabhängigen Zellen weisen Mutationen der Androgenrezeptoren auf, welche auf andere Wachsfaktoren ansprechen [Taplin et al.1995].

1.1.3. Histologie

1.1.3.1. Histologische Subtypen

Das Adenokarzinom geht vom Epithel der Azini und der terminalen Drüsenausführungsgänge aus. Mehr als 95 % aller Prostatakarzinome gehören diesem Typ an. Eine modifizierte WHO-Klassifikation ist in Tabelle (1) wiedergegeben [Denis et al.1995].

Azinäres Adenokarzinom
Duktales Adenokarzinom
Muzinöses Adenokarzinom
Transitionalzellkarzinom
Plattenepithelkarzinom
Neuroendokriner Tumor
Kleinzelliges anaplastisches Karzinom
Undifferenziertes Karzinom

Tab. 1: Klassifizierung des Prostatakarzinoms [nach Denis et al. 1995]

1.1.3.2. Histologisches Grading

Die **WHO** teilt die Karzinome in Grad 1, 2 und 3 (gering-, mäßig-, hochdifferenziertes Karzinom) ein [Mostofi et al. 1976].

Die **Einteilung nach Gleason** [Gleason 1966] basiert rein auf der Bewertung des strukturellen Karzinommusters und der unterschiedlichen Entdifferenzierung ohne Berücksichtigung von zytologischen Malignitätskriterien. Eine Übersetzung beider Graduierungssysteme zeigt erfahrungsgemäß etwa folgende Abstufungen:

G1 = Gleason 2-4
G2 = Gleason 5-7
G3 = Gleason 8-10

Die Graduierung nach den **Empfehlungen des Pathologisch-Urologischen Arbeitskreises Prostatakarzinom** berücksichtigt in einer Punkteskala sowohl strukturelle Gesichtspunkte (drüsige-, kribriforme-, bzw. solide Karzinomanteile) und auch zytologische Kriterien (Kernformen, Kern-Plasma-Relationen,

Kerngrößenklassen, Zahl der Nukleolen und Hyperchromasiegrade). Diese Graduierung hat sich als prognostisch bedeutsam erwiesen. Der Malignitätsgrad Ia-IIa zeigt eine deutlich günstigere Prognose als der Malignitätsgrad IIb und III [Helpap et al. 1985].

1.1.4. Stadieneinteilung

Die Klassifikation nach Whittmore und Jwett (1975) war die erste weit verbreitete Klassifikation auf diesem Gebiet. Die TNM-Klassifikation [UICC 2002] ist in Tabelle (2) dargestellt.

T Primärtumor
Tx Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0 Kein Anhalt für Primärtumor
T1 Klinisch nicht erkennbarer Tumor, der weder tastbar noch in bildgebenden Verfahren sichtbar ist
T1 a = Zufälliger histologischer Befund ("incidental carcinoma") in 5 % oder weniger des resezierten Gewebes
T1 b = Zufälliger histologischer Befund ("incidental carcinoma") in mehr als 5 % des resezierten Gewebes
T1 c = Tumor mittels Nadelbiopsie diagnostiziert (z. B. wegen erhöhter PSA-Werte)
T2 Tumor begrenzt auf Prostata
T2 a = Tumor befällt eine 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
T3 Tumor breitet sich durch die Prostatakapsel hindurch in extrakapsuläres Gewebe aus
T3 a = extrakapsulärer Tumor.
T3 b = Tumor infiltriert Samenblase(n)
T4 Tumor ist fixiert oder infiltriert andere benachbarte Strukturen
N Regionäre Lymphknoten
Nx Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0 Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1 Regionärer Lymphknotenbefall
M Fernmetastasen
Mx Metastasen nicht beurteilbar
M0 Kein Anhalt für Fernmetastasen
M1 Metastasen
M1a = Extraregionärer Lymphknotenbefall
M1b = Knochenmetastasen
M1c = Andere Manifestationen

Tab. 2: TNM-Stadien des Prostatakarzinoms [UICC 2002]

1.1.5. Diagnostik

1.1.5.1. Symptomatik

Prostatakrebs verursacht selten frühe Krankheitssymptome, da die Mehrheit der Adenokarzinome in der Peripherie der Drüse, weit entfernt von der Urethra, entsteht. Das Auftreten von Symptomen weist auf eine lokal fortgeschrittene Erkrankung hin. Dysurie, Pollakisurie, Hämospemie, verringertes Ejakulatvolumen und Impotenz sind die Hauptsymptome. Bei einer Metastasierung, die vorwiegend in das Skelettsystem auftritt können Knochenschmerz, Anämie und ein paraneoplastisches-Syndrom hinzukommen [Carter und Partin 1998].

1.1.5.2. Untersuchungen zur Diagnostik und Stadieneinteilung

Zur Diagnostik des Prostatakarzinoms stehen nachfolgende Maßnahmen zur Verfügung:

Digitale Rektale Untersuchung (DRU)

Mit der DRU können etwa 70 % der Prostatakarzinome der peripheren Drüse diagnostiziert werden. Transitionalzellkarzinome werden nicht entdeckt [Altwein et al. 2001].

Prostata-spezifisches Antigen (PSA) im Serum

Das PSA ist eine Glykoprotein-Serin-Protease und wird in den Drüsenzellen gebildet. Seine Hauptfunktion besteht in der Verflüssigung des Ejakulates. Die Konzentration im Seminalplasma schwankt zwischen 0,3 und 3 mg/ml, und ist somit um den Faktor 1000 höher als im Serum [Luboldt und Rübber 2000]. Mehrere Studien hatten einen Cut-Off des Serum PSA-Wertes von 4 ng/ml für die Entdeckung des Prostatakarzinoms vorgeschlagen [Gann et al. 1995]. Bei einem PSA-Wert zwischen 4 und 10 ng/ml besteht eine starke Überlappung der Werte von Patienten mit einem Benigen Prostata Syndrom (BPS) und einem Prostatakarzinom. Vier Ansätze sollen in diesem Bereich die diagnostische Genauigkeit verbessern:

PSA im Zeitverlauf (PSA velocity): Da die PSA-Werte direkt mit dem Volumen des Prostataepithels korrelieren, kann die Wachstumsgeschwindigkeit von benignem und malignem Prostatagewebe durch serielle Messungen des PSA

Verlaufes abgeschätzt werden. Ein Anstieg um mehr als 0.75 ng/ml pro Jahr weist auf ein Prostatakarzinom hin [Carter et al. 1992].

PSA-Dichte (PSA density): Hierunter versteht man den Quotienten aus PSA Konzentration und sonographisch bestimmtem Prostata-Volumen. Ein Wert von mehr als 0.15 ng/ml PSA pro ccm Prostata-Volumen weist auf ein mögliches PCA hin [Benson et al 1992].

Altersabhängige PSA-Grenzwerte: Der PSA-Wert steigt mit zunehmendem Lebensalter an. Die Berechnung der 95%-Perzentile ergibt altersabhängige Grenzwerte [Oesterling et al. 1993 und Dalkin et al. 1993].

Bestimmung des Quotienten von freiem und gesamtem PSA (qPSA): Das PSA liegt im Serum überwiegend an Alpha-1-Antichymotrypsin (ACT) gebunden vor. Der QPSA liegt bei Patienten mit reinem BPS im Mittel bei 0.30 (30% des PSA in freier Form), bei Patienten mit lokalisiertem PCA bei 0.15. Ein Grenzwert von kleiner als 0.18 scheint auf das Vorliegen eines PCA hinzuweisen [Lilja et al. 1991].

Transrektaler Ultraschall der Prostata (TRUS)

Der TRUS ermöglicht durch die Verwendung hochfrequenter biplaner Schallsonden eine sehr gute strukturelle Feinbeurteilung der Prostata. Ergänzend zum Tastbefund erhält man Informationen zur Organgröße, der prognostisch bedeutsamen Samenblaseninvasion und zur Abgrenzbarkeit des Tumors gegenüber den Nachbarstrukturen. Andriole et al. sowie Ellis et al. konnten zeigen, dass der TRUS jedoch in der Sensitivität der DRU und dem PSA-Wert nicht überlegen ist [Andriole et al. 1988, Ellis et al. 1994].

Transrektale oder perineale Stanzbiopsie der Prostata

Eine Biopsieentnahme aus der Prostata ist bei jedem Verdacht auf das Vorliegen eines Karzinoms indiziert. Hierzu besteht die Möglichkeit über einen perinealen oder transrektalen Zugangsweg, unter Ultraschallkontrolle, Gewebe zu entnehmen. Bei palpablem Tumor werden mit der Stanzbiopsie Sensitivitäten von 89 % und Spezifitäten von 88 % erreicht [Faul 1991]. In 50 % der Fälle kommt es zu einer Makrohämaturie und Hämospemie, die in den meisten Fällen spontan sistieren und keiner weiteren Therapie bedürfen [Collins et al. 1993]. In bis zu 2 % der Fälle

wird eine Tumorzellverschleppung in den Stichkanal beobachtet, deren klinische Bedeutung jedoch nicht bekannt ist [Bastacky et al. 1991].

Skelettszintigraphie, CT und MRT-Untersuchungen

Die *Skelettszintigraphie* ist die empfindlichste Methode zum Nachweis von Knochenmetastasen [Terris et al 1991].

Das *CT-Abdomen* oder das *MRT-Abdomen* weist für die Diagnostik eines lokalen Progresses nur eine geringe Sensitivität auf. Lymphknotenmetastasen können ab einer Größe von 1 cm nachgewiesen werden.

1.1.6. Therapie des lokal begrenzten PCA (pT1-3)

Für die Behandlung des lokal begrenzten PCA (pT1-3) stehen folgende Therapieoptionen zur Verfügung:

- Radikale Prostatovesikulektomie (RPVE)
- Strahlentherapie
- Watchful-waiting-Strategie

1.1.6.1. Radikale Prostatovesikulektomie (RPVE)

Das Operationsziel ist, durch die komplette Organentfernung unter Einschluss der Samenblasen eine vollständige Elimination des Tumors zu erreichen [Walsh 1998].

Das lokal begrenzte Tumorstadium (T1b-T3, N0, M0) ist die klassische Indikation zur Durchführung der RPVE. Daneben sollte aufgrund des biologischen Verhaltens des Tumors eine voraussichtliche Lebenserwartung von mindestens 10 Jahren vorliegen. Diese Empfehlung wurde erstmals 1975 von Jewett ausgesprochen und hat auch heute noch Gültigkeit in den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Urologie [Jewett 1975, Miller und Weißbach 1999].

Die onkologischen Ergebnisse nach RPVE werden entscheidend von der Patientenselektion [Huland 2001], dem Differenzierungsgrad des Tumors [Catalona 1994] und dem Gleason Score [Sweat et al. 2002] beeinflusst. Die Arbeitsgruppe um Huland konnte an 789 Patienten zeigen, dass das tumorspezifische Überleben mit dem Tumorstadium korreliert. Mehr als 90 % der Patienten mit einem organbegrenzten Karzinom wiesen nach 7 Jahren ein tumorspezifisches Überleben

auf, wohingegen Patienten mit einem organüberschreitenden Karzinom deutlich schlechtere Daten zeigten [Huland 2001].

Komplikationen sind ein massiver Blutverlust, eine rektale Verletzung in 2 % der Fälle und in bis zu 1,6 % eine Ureter-Verletzung [Hammerer et al. 1995, Igel et al. 1987]. Die unmittelbare postoperative Sterblichkeit liegt bei 2% [Hammerer et al. 1995]. Die häufigsten Ursachen für die postoperative Mortalität sind thrombembolische Komplikationen [Andriole et al. 1994].

Die limitierenden Faktoren dieses operativen Eingriffes sind allerdings die Folgeerscheinungen im Sinne einer Harninkontinenz und einer erektilen Dysfunktion. Die Häufigkeit beider Komplikationen ist abhängig von der Operationstechnik und dem Ausbreitungsgrad des Tumors [Noldus et al. 2002].

Derzeit wird an mehreren urologischen Zentren die radikale Prostatoveskuolektomie über einen laparoskopischen bzw. extraperitonealen endoskopischen Zugang an größeren Patientenserien durchgeführt. Die Vorteile dieses Verfahrens sollen in verbesserten Kontinenzverhältnissen, geringeren Blutverlusten und einer schnelleren Rekonvaleszenz liegen [Guillonueau et al. 2000 und 2001; Türk et al. 2001].

1.1.6.2. Strahlentherapie

In der Strahlentherapie werden mehrere Techniken zur Behandlung des lokal begrenzten PCA eingesetzt.

Neben der externen Technik werden in den letzten Jahren vermehrt die interstitiellen Verfahren (permanente Seed-Implantation und HDR-Afterloading) eingesetzt. Die tumorspezifischen Überlebensraten nach externer Strahlentherapie sind vergleichbar mit den Ergebnissen nach radikaler Prostatovesikulektomie. Langzeitstudien weisen tumorspezifische 5- bzw. 10-Jahresüberlebensraten von 95 bzw. 89 % nach externer Strahlentherapie bei lokal begrenztem PCA auf [Shipley et al. 1999, Zagars et al. 1988]. Die Arbeitsgruppe um Grimm berichtete über Langzeitergebnisse nach ¹²⁵Iod-Brachytherapie bei Patienten mit einem niedrigen Progressionsrisiko. Das PSA-freie Überleben betrug in diesem Kollektiv 87 % [Grimm et al. 2001].

Bei der Strahlenbehandlung steht die akute, aber auch lang anhaltende Strahlenzystitis, Proktitis oder Enteritis im Vordergrund der Komplikationen [Andriole et al. 1994, Igel et al. 1987]. Die Impotenzraten sind niedriger als nach operativen Eingriffen und werden zwischen 5-41 % angegeben [Robinson et al. 2002, Schmeller et al. 1997]. Die Harnröhrenstrikturraten von bis zu 13 % sind in

der Häufigkeit vergleichbar mit der Anastomosenstriktur nach radikaler Prostatovesikulektomie [Middleton et al. 1995].

Die Entwicklung der 3-D-konformalen Bestrahlungstechnik ermöglicht mittlerweile eine exaktere Applikation höherer Strahlendosen in ein zuvor errechnetes Feld, bei gleichzeitiger Reduktion der Nebenwirkungen der im Strahlenfeld liegenden Nachbarorgane [Ryu et al. 2002].

1.1.6.3. Watchful-waiting-Strategie

Bei dieser Strategie handelt es sich im eigentlichen Sinne um eine verzögerte hormonelle Therapie. Nach Diagnosestellung erfolgt zunächst keine aktive Behandlung sondern ein Monitoring des PSA-Wertes (3-6 monatlich) und der klinischen Symptome der Patienten. Erst beim Auftreten von lokalen Symptomen oder Beschwerden durch Fernmetastasen wird eine antiandrogene Therapie durchgeführt.

In einer kürzlich publizierten prospektiven randomisierten Studie konnte gezeigt werden, dass die Watchful-waiting-Strategie keine Option bei Patienten mit mäßig- oder schlecht differenzierten Tumoren und einer Lebenserwartung länger als 10 Jahren darstellt [Holmberg et al. 2002].

1.1.6.4 Alternative Therapieformen des lokoregionären PCA

In den letzten Jahren haben 2 minimal-invasive Techniken in der Behandlung des lokoregionär begrenzten PCA vermehrtes klinisches Interesse gefunden. Neben der *Kryoablation der Prostata* wird die lokale Therapie mittels *Hoch Intensivem Fokussiertem Ultraschall (HIFU)* zur Behandlung des Prostatakarzinoms eingesetzt.

Die **Kryoablation der Prostata**, die bereits in den 70er Jahren aufgrund inakzeptabler Nebenwirkungen verlassen worden war, hat sich aufgrund moderner Kryotechnik neu an die Therapie des lokoregionären PCA adaptiert. Als Indikationsspektrum gelten das lokoregionäre PCA bei Patienten mit hoher Komorbidität, das Lokalrezidiv nach Strahlentherapie und das Lokalrezidiv nach radikaler Prostatovesikulektomie [Sommer et al. 2001].

In mehreren Studien konnte eine negative Biopsierate in 75-80 % der Fälle 6 Monate nach Behandlung gezeigt werden [Cohen et al. 1996, Conolly et al., 1997, Sommer et al. 2001].

Das therapeutische Ziel des **Hoch Intensiven Fokussiertem Ultraschall** ist die Induktion einer lokal minimal-invasiven Nekrose der Prostata. Über einen transrektal eingeführten Applikator werden Ultraschallwellen im Prostatagewebe fokussiert. Die absorbierte Ultraschallenergie wird in Hitze konvertiert, die bei Temperaturen um 65°C zu einer Koagulationsnekrose führt. 50 % der Studienpatienten wiesen postoperativ nicht mehr nachweisbare Serumwerte für das PSA auf. Die Langzeitergebnisse zu dieser Behandlungsform stehen derzeit noch aus. [Chapelon et al. 1999, Thüroff und Chaussy 2001].

1.2. Photodynamische Therapie

1.2.1. Einleitung

Photodynamische Verfahren beruhen auf der Wechselwirkung von Licht mit bestimmten Farbstoffen, den so genannten Photosensibilisatoren, im Gewebe. Nach Absorption von Licht reagieren die Photosensibilisatoren einerseits durch Emission von Fluoreszenz, andererseits werden in der Gegenwart von Sauerstoff zytotoxische Reaktionen ausgelöst.

Die Fluoreszenzemission der Photosensibilisatoren wird für die Tumordiagnostik, die phototoxischen Effekte für die Tumorthherapie genutzt.

Der Begriff "Photodynamische Wirkung" wurde erstmals zu Beginn des 20. Jahrhunderts von Tappeiner und Oskar Raab in München beschrieben [Tappeiner 1900].

Sie beobachteten, dass Wimperntierchen die mit Acridin-Orange behandelt wurden, bei zusätzlicher Einwirkung von Licht starben. Dieser Effekt wurde von ihnen als „lichtinduzierte Reaktion in biologischen Systemen unter Beteiligung von Sauerstoff“ bezeichnet.

1.2.2. Mechanismen

Ausgangspunkt für die photodynamische Reaktion ist üblicherweise der langlebige angeregte Triplett-Zustand der Photosensibilisatormoleküle. Aus diesem Zustand heraus finden in Gegenwart geeigneter Substrate Elektronen- oder Energietransferaktionen statt, die als Typ-I- bzw. Typ-II-Mechanismus bezeichnet werden und beide zur Entstehung hochreaktiver Sauerstoffspezies führen. Beim

Typ-I-Mechanismus fungieren die angeregten Photosensibilisatormoleküle als Elektronendonatoren für Substrat- oder Sauerstoffmoleküle und erzeugen hierbei hochreaktive Radikale (z.B. O_2^-). Diese führen zur Oxidation verschiedenster Biomoleküle und letztlich zu einer Zellschädigung. Beim Typ-II-Mechanismus findet ein Transfer elektronischer Anregungsenergie vom Photosensibilisatormolekül auf ein Sauerstoffmolekül statt. Dabei erfolgt gleichzeitig ein Übergang des Sensibilisatormoleküls vom angeregten Triplett-Zustand in den Singulett-Grundzustand und ein Übergang des Sauerstoffmoleküls vom Triplett-Grundzustand in den angeregten Singulett-Zustand [Bunting 1992]. Der Photosensibilisator ist damit wieder in seinen Grundzustand „regeneriert“ und steht für einen weiteren Absorptionsprozess zur Verfügung. Abbildung 1 illustriert diesen Sachverhalt.

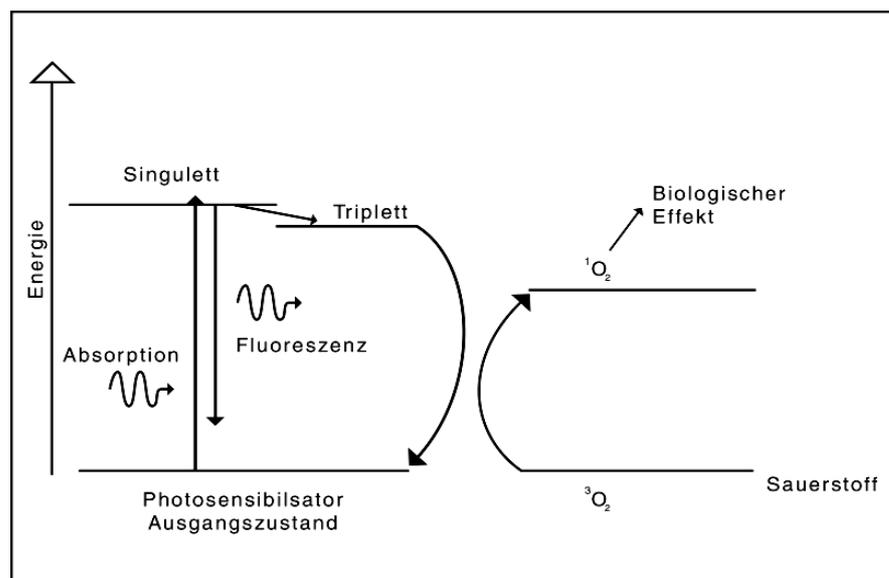


Abb. 1: Energetische Veränderungen während der Anregung des Photosensibilisators

Sauerstoff ist eines der wenigen Moleküle, dessen Grundzustand ein Triplett-Zustand ist. Angeregter Singulett-Sauerstoff ist ein hochreaktives Molekül, das zu ähnlichen Oxidationsmechanismen wie beim Typ-I-Mechanismus und damit ebenfalls zu einer Zellschädigung führt.

Hochreaktive Sauerstoffspezies führen zu einer Oxidation verschiedenster Biomoleküle, wie beispielsweise ungesättigter Fettsäuren und Phospholipide, Cholesterin und Aminosäuren mit elektronenreichen Seitenketten (Cystein, Histidin, Methionin, Tryptophan und Tyrosin). Die primären Oxidationsprodukte

sind häufig instabil und damit resultiert eine Änderung ihrer physiologischen Funktion bzw. eine Minderung der funktionellen Integrität gesamter Zellbestandteile, die in der Summe direkt oder indirekt zu einer letalen Zellschädigung führen können [Strauss 2003].

1.2.3. Photosensibilisatoren

Wesentliche Kriterien für die Auswahl eines geeigneten Photosensibilisators sind:

Hohe Tumorselektivität

Große Eindringtiefe des Anregungslichts ins Gewebe

Hohe Triplet- bzw. Singulett-Sauerstoff-Ausbeute

Gute Photostabilität

Geringe Zytotoxizität

Geringe Verweildauer im Gewebe

Photosensibilisatoren der 1. Generation sind insbesondere komplexe Substanzgemische verschiedener Porphyrinmoleküle (Hämatoporphyrin-Derivat, Photofrin[®]), deren Wirksamkeit vor allem darauf beruht, dass sich Aggregate bevorzugt im Tumorgewebe (z.B. im Tumorgefäßsystem) anlagern. Photofrin[®] besteht im Wesentlichen aus einer Mischung nicht-metallischer Porphyrinringe die durch Ether- und Esterbrücken verbunden sind. Eine detaillierte Substanzanalyse, die auch eine exakte Reproduzierbarkeit erlauben würde, ist bisher nicht gelungen [Dougherty 1992]. Eine verhältnismäßig geringe Tumorselektivität von Photofrin[®] [Stepp 1993] und das Auftreten von z.T. erheblichen Nebenwirkungen nach Photofrin[®]-Applikation, auf die in den folgenden Abschnitten eingegangen wird, waren ein Grund für die Entwicklung von Photosensibilisatoren der II. Generation. Die Photosensibilisatoren der II. Generation zeichnen sich durch eine vergleichsweise höhere tumorselektive Anreicherung, eine Absorption von langwelligerem Licht sowie eine geringere kutane Photosensibilisierung aus [Dougherty 2002].

Photosensibilisatoren der jüngeren Generation sind meistens reine Substanzen, und werden vorwiegend den Porphyrinen, Chlorinen, Bacteriochlorinen, Phthalocyaninen oder Naphthalocyaninen zugeordnet [Bonnett 1995].

5-Aminolävulinsäure

Die exogene Applikation von 5-Aminolävulinsäure (5-ALA) - einem natürlichen Zwischenprodukt der Hämebiosynthese - führt in epithelialen Tumorzellen zu einer Anreicherung von Protoporphyrin IX, das sowohl photodiagnostisch als auch therapeutisch nutzbar ist [Kennedy et al. 1990].

5-ALA wird physiologisch aus Glycin und Succinyl-Coenzym A durch das Enzym 5-Aminolävulinasäure-Synthase in den Mitochondrien gebildet. Die nachfolgenden Syntheseschritte unter Beteiligung der Enzyme Porphobilinogen-Synthase, Hydroxybilan-Synthase und Uroporphyrinogen-Decarboxylase finden im Zytoplasma statt und führen zur Bildung von Coproporphyrinogen III. Das Enzym Coproporphyrinogen-Oxidase, lokalisiert im Membranzwischenraum der Mitochondrien, decarboxyliert sein Substrat zu Protoporphyrinogen IX. Der vorletzte Schritt der Porphyrinbiosynthese wird durch das Enzym Protoporphyrinogen-Oxidase katalysiert und führt zur Bildung von Protoporphyrin IX. Abschließend wird durch den Einbau von zweiwertigem Eisen in den durch das Enzym Ferrochelatase das Endprodukt Häm gebildet. Beide Enzyme sind an der inneren Mitochondrienmembran verankert. Die Porphyrinbiosynthese unterliegt unter physiologischen Bedingungen einer strengen Kontrolle durch das Endprodukt [Peng et al 1997].

Durch exogene Applikation von 5-ALA und verschiedenen Esterderivativen wird dieser natürliche Regelkreis umgangen, was die Grundlage für die endogene Anreicherung des fluoreszierenden und photodynamisch aktiven Protoporphyrin IX ist. Die Mechanismen, die zu einer bevorzugten Anreicherung von Protoporphyrin IX in Tumorzellen führen, sind bisher nicht eindeutig geklärt. Diskutiert werden: (1) eine gesteigerte Penetration infolge der Beeinträchtigung einer physiologischen Barriere, (2) eine gesteigerte Aufnahme in die Zellen (infolge veränderter Eigenschaften transmembranärer Transportproteine), (3) eine veränderte Aktivität einzelner Enzyme (Z.B. Reduktion der Ferrochelataseaktivität) und (4) eine reduzierte Eisenverfügbarkeit. Aufgrund der tumorbiologischen Variabilität ist es wahrscheinlich, dass einzelne Mechanismen entsprechend der Tumorentität mit unterschiedlicher Gewichtung zur Anreicherung von Protoporphyrin IX beitragen.

Die systemische Applikation von 5-ALA führt zu einem raschen Anstieg der renalen Ausscheidung des Wirkstoffs sowie seiner hydrophilen Metabolite Porphobilinogen

und Coproporphyrin. Der lipophilere Metabolit Protoporphyrin IX wird biliär entweder primär oder (nach Verstoffwechslung von Häm) als Bilirubinglucuronid ausgeschieden. Die systemische Applikation von 5-ALA führt kurzzeitig zu einer generalisierten Photosensibilisierung. Lichtschutzmaßnahmen für Haut und Augen werden für 24-48 h empfohlen.

1.2.4. Lichtquellen

Eine wesentliche Voraussetzung zur Durchführung der photodynamischen Therapie ist die Anregung des jeweils verwendeten Photosensibilisators durch Licht.

Die meisten Lichtquellen, die für die PDT, beinhalten die Optimierung der emittierten Wellenlänge nahe dem therapeutischen Absorptionsmaximum. Historisch gesehen waren Argon- und Metaldampf-Laser die erste Wahl für phototherapeutische Anwendungen. Aufgrund technischer Entwicklungen ist es gelungen auch Festkörperlaser, wie den Nd:YAG-Laser, nach Frequenzvervielfachung für phototherapeutische Zwecke nutzbar zu machen [Hofstetter 1995].

Die Lichtmenge, die auf die Oberfläche appliziert wird, ist allerdings nicht mit der Lichtmenge gleichzusetzen, die vom Photosensibilisator im Gewebe absorbiert wird. Sie kann durch Lichtreflexion an der Gewebeoberfläche oder durch Absorption in körpereigenen Chromophoren reduziert werden. Darüber hinaus muss berücksichtigt werden, dass die Eindringtiefe von Licht in Gewebe signifikant von der Wellenlänge abhängt. Die Eindringtiefe beträgt im ultravioletten Spektralbereich nur wenige Zehntelmillimeter, sie vergrößert sich aber kontinuierlich mit steigender Wellenlänge bis hin zu einigen Millimetern im nahen Infrarot bei etwa 1000 nm [van Gemert et al 1989]. Die meisten Photosensibilisatoren sind optisch charakterisiert durch eine hohe Absorptionsbande zwischen $\lambda = 400$ nm und $\lambda = 430$ nm (Soret-Bande) und einer weiteren kleineren Absorptionsbande im Wellenlängenbereich $\lambda > 550$ nm (Q-Banden) [Brancaleon und Moseley 2002]. Die Q-Banden sind das Ziel für die PDT-Zwecke [Reddi und Jori 1988]. Sie haben einen hohen Wirkungsgrad für die Typ I und Typ II Reaktion und Licht dieser Wellenlänge besitzt eine hohe Eindringtiefe in das Gewebe [Profio und Doiron 1987]. Im Allgemeinen penetriert Licht des Wellenlängenbereiches $\lambda = 600-700$ nm um 50 % bis 200 % tiefer in das Gewebe als Licht des Wellenlängenbereiches um $\lambda = 400-500$ nm [Wu et al. 1993].

Laser sind allerdings nicht die einzigen Lichtquellen für die PDT. Auch nicht-kohärente Lichtquellen wie gefilterte Hochleistungslampen und LEDs (Leuchtdioden) können ihre Anwendung in der PDT finden. Für die Nutzung von Lampen ist bisher jedoch der oberflächige Zugang unbedingte Voraussetzung. Für die endoskopische PDT werden bereits Entwicklungen auf Lampen- als auch auf LED-Basis durchgeführt [Waidelich et al. 2003].

1.3. Photodynamische Therapie des Prostatakarzinoms

Mit der photodynamischen Therapie des Prostatakarzinoms haben sich bislang nur sehr wenige Arbeitsgruppen beschäftigt. Zu Beginn der 80iger Jahre wurden tierexperimentelle Untersuchungen mit Photosensibilisatoren der I. Generation durchgeführt [McPhee et al. 1984]. Gonzalez und Henry untersuchten weiterhin die Möglichkeit den nachgewiesenen phototherapeutischen Effekt durch die Kombination mit bioreduktiven Alkylantien oder dem Radiosensibilisator Misonidazol (MISO) zu optimieren [Gonzalez et al. 1986, Henry et al. 1989]. Tierexperimentelle Untersuchungen mit synthetisch hergestellten Photosensibilisatoren (Aluminiumphthalocyanin, HpD, liposomale Benzoporphyrinderivate) konzentrierten sich auf den Nachweis einer photodynamischen Wirkung im Prostatagewebe [Momma et al. 1998]. Die Arbeitsgruppe um Lee konnte in der benignen Hundeprostata nach Applikation von Photofrin[®] gegenüber Kontrollgruppen nicht thermisch bedingte, phototoxische Nekrosen nachweisen [Lee et al. 1997]. Diese Daten wurden von der Arbeitsgruppe um Chang bestätigt, die nach Applikation von disulfoniertem Aluminium-Phthalocyanin eine signifikante Nekrose des Drüsengewebes bei erhaltenem Stroma aufzeigen konnten [Chang et al. 1999].

Windahl et al. berichteten 1990 erstmals über klinische Erfahrungen mit Photofrin[®] am humanen Prostatakarzinom bei 2 Patienten [Windahl et al. 1990]. Nach subtotaler transurethraler Resektion der Prostata wurde eine Lichtdosis von 15 J/cm² der Wellenlänge von $\lambda = 628$ nm transurethral in die Resektionsloge appliziert. Zur Beurteilung der Therapieeffizienz wurde der Verlauf des PSA-Wertes herangezogen, der bei beiden Patienten nach der Therapie abfiel. Neben lokalen Nebenwirkungen im Sinne einer Harndrangsymptomatik mussten beide Patienten aufgrund der extremen Photosensibilisierung der Haut durch Photofrin[®] einen mehrwöchigen strikten Lichtschutz einhalten.

Nathan et al. publizierten kürzlich ihre Erfahrungen mit einer PDT bei Patienten mit einem histologisch nachgewiesenem Tumorrezidiv nach Bestrahlung der Prostata [Nathan et al. 2002]. Als Photosensibilisator wurde mTHPC verwendet. Aufgrund seiner speziellen Kinetik und der transienten Anreicherung im Zielgewebe wurde dieser Sensitizer der II. Generation 3 Tage vor Durchführung der PDT appliziert. Die Lichtwellenleiter wurden unter transrektaler Ultraschallkontrolle perineal in die Drüse eingeführt. Als Lichtquelle wurde ein Diodenlaser ($\lambda = 652 \text{ nm}$) verwendet. Bei 9 von 14 Patienten kam es nach der Therapie zu einem Abfall des PSA-Wertes für einen mittleren Zeitraum von 10 Monaten. 4 Patienten entwickelten nach der Behandlung eine Stressinkontinenz unterschiedlichen Ausmaßes und 4 von initial 7 sexuell aktiven Männern berichteten nach der Therapie über das Auftreten einer erektilen Dysfunktion. 5 von 14 Patienten wiesen eine kutane Hautreaktion mit Erythembildung auf, die spontan ausheilte.

Erste tierexperimentelle Untersuchungen der eigenen Arbeitsgruppe zum Einsatz der photodynamischen Therapie mittels 5-ALA induziertem Protoporphyrin IX konnten zunächst eine effektive Anreicherung von PPIX in epitheliale Prostatagewebe von Beaglehunden nachweisen. In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass mittels der PDT phototherapeutisch induzierte Nekroseareale mit einem Durchmesser von ca. 1 cm erzielt werden können (Sroka et al. 2003). In einer zweiten Versuchsreihe an einem für das Prostatakarzinom etablierten Tumormodel in der Copenhagen-Ratte konnte anschließend der phototherapeutische Effekt an Karzinomzellen gegenüber Kontrollgruppen nachgewiesen werden (Zaak et al. 2004).

Diese hierbei gewonnenen Erkenntnisse bildeten die Grundlage für die weiterführenden Untersuchungen am humanen Prostatakarzinomgewebe, die Gegenstand der vorgelegten Promotionsarbeit sind.

2. Studienziele

Das grundlegende Potenzial von 5-Aminolävulinsäure-induziertem Protoporphyrin IX zur photodynamischen Therapie des humanen Prostatakarzinoms soll untersucht werden.

Die für dieses Zielvorhaben wesentlichen Fragestellungen lassen sich wie folgt auflisten:

1. Reichert sich Protoporphyrin IX nach exogener Applikation von 5-Aminolävulinsäure im humanen Prostatakarzinom an?
2. Hat eine photodynamische Therapie mit 5-Aminolävulinsäure-induziertem Protoporphyrin IX einen Effekt auf das humane Karzinom?

3. Material und Methoden

3.1. Untersuchungen zur PPIX-Lokalisation im humanen Karzinom

Ziel dieser Untersuchungen war es, die Anreicherung von 5-ALA induziertem PPIX im humanen Prostatakarzinom nachzuweisen. Die Prüfung dieses Sachverhaltes stellt die Grundvoraussetzung für weiterführende Untersuchungen zur PDT am humanen Karzinom dar.

Hierzu wurde an Prostatektomiepräparaten im Rahmen einer radikalen Prostatovesikulektomie nach präoperativer 5-ALA die Anreicherung von PPIX im PCA untersucht.

Zu diesen Untersuchungen lag ein Votum der Ethikkommission der LMU München vor (Projekt Nr. 90/01; Ethikkommission der Med. Fakultät der LMU München). Alle Patienten wurden mittels eines ausführlichen Gesprächs und einer Patienteninformation aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis.

Folgende Einschlusskriterien wurde festgelegt:

- Patienten mit histologisch nachgewiesenen Erstbefund eines Prostatakarzinoms
- Indikation zur radikalen Prostatovesikulektomie
- Lokal begrenztes PCA
- Narkoserisiko ASA 1-3
- Negatives Knochenszintigramm
- Kein Tumorbefall der pelvinen Lymphknoten

Das mittlere Patientenalter betrug 64 (52-72) Jahre. Der PSA-Wert lag zwischen 0.5 und 20 ng/ml, der Gleason Score zwischen 4 und 8. Bei keinem Patienten bestand zum Zeitpunkt des operativen Eingriffes skelettszintigraphisch der Hinweis oder der Verdacht auf das Vorliegen von Skelettmetastasen bzw. in Computertomogram der v.a. vergrößerte Lymphknoten in Beckenbereich.

3.1.1. Patienten

Bei insgesamt 15 Patienten wurden die entsprechenden Untersuchungen durchgeführt. Bei allen Patienten war vor Durchführung der Studie und radikalen

Prostatektomie histologisch mittels einer Prostatastanzbiopsie ein PCA als Erstbefund diagnostiziert worden.

Alle Patienten wurden über die Studie mittels eines ausführlichen Gesprächs und einer Patienteninformation aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis.

Das Alter der Patienten zum Zeitpunkt des operativen Eingriffes betrug 63,9 (52-72) Jahre. Bei allen Patienten wurden präoperative Staginguntersuchungen (DRE, TRUS, Skelettszintigramm) durchgeführt. Bei keinem Patienten bestand zum Zeitpunkt des operativen Eingriffes skelettszintigraphisch der Hinweis oder der Verdacht auf das Vorliegen von Skelettmetastasen.

Die entsprechenden Patientencharakteristika sind in Tab. 3 aufgeführt.

Patient (Nr.)	Alter (Jahre)	Körper- Gewicht (kg)	PSA (ng/ml)	TRUS (ccm)	Histologie Präop. (Gleason)
1	53	88	5,6	70	5 (3+2)
2	70	103	10,4	87	6 (3+3)
3	67	75	6,8	34	7 (4+3)
4	55	83	9	38	5 (3+2)
5	71	64	6,2	25	6 (3+3)
6	63	83	11,5	30	6 (3+3)
7	58	78	6,4	50	6 (3+3)
8	63	97	5,2	20	8 (4+4)
9	70	88	3,3	45	6 (3+3)
10	52	82	0,5	10	6 (3+3)
11	63	114	4,5	35	5 (2+3)
12	63	90	3,8	35	4 (2+2)
13	68	75	8,7	50	7 (3+4)
14	70	80	8	11	4 (2+2)
15	72	112	20	25	7 (3+4)

Tab. 3: Präoperative Patientencharakteristika

3.1.2. 5-Aminolevulinsäure (5-ALA)

5-ALA (5-Aminolevulinsäure-Hydrochlorid; medac GmbH, Wedel, Deutschland) wurde zur Herstellung einer gebrauchsfertigen Lösung in Trinkwasser gelöst. Die Patienten erhielten 20mg 5-ALA/kg KG (KG = Körpergewicht des Patienten).

Die zu applizierende Menge an 5-ALA wurde nach folgendem Schema errechnet.

Körpergewicht in kg x 20 mg 5-ALA/kg KG = zu applizierende 5-ALA-Gesamtdosis in mg.

In den bislang vorliegenden Untersuchungen zur oralen Applikation von 5-ALA wurden 1500 mg in 50 ml Trinkwasser gelöst [Kriegmair et al. 1995, Stummer et al. 1998;]. Somit errechnete sich die Trinkmenge über folgende Formel:

$$\frac{\text{Zu applizierende 5-ALA-Gesamtdosis in mg} \times \text{ml}}{1500 \text{ mg 5-ALA in 50 ml}} = x \text{ ml Trinklösung}$$

Die 5-ALA Trink-Lösungen wurden jeweils frisch vor den Operationen angesetzt.

Unter der Berücksichtigung tierexperimenteller Kinetikstudien der eignen Arbeitsgruppe [Sroka et al. 2003, Zaak et al. 2004] wurde folgendes Schema für die Applikation der 5-ALA gewählt:

- 13 Patienten erhielten die 5-Aminolevulinsäure ca. 4 Stunden vor der geplanten Prostataentnahme (= Zeitpunkt der 5-ALA-Applikation bis zum Zeitpunkt der intraoperativen Organentnahme) p. o.
- Bei einem Patienten wurde die Applikation von 5-ALA 2 Stunden vor Organentnahme durchgeführt.
- Ein Patient erhielt 5-ALA ca. 12 Stunden vor der Organentnahme.

3.1.3. Versuchsablauf

Nach operativer Entfernung der Organe wurden diese sofort in einen abgedunkelten Raum verbracht.

Dort wurden alle Präparate:

1. In longitudinale, ca. 0,5 cm dicke Scheiben geteilt und die Schnittflächen auf das Vorhandensein einer PPIX-Fluoreszenz untersucht.
2. In flüssigem Stickstoff eingefroren, bei -70°C gelagert und dann lichtgeschützt zur weiteren histologischen Aufarbeitung gebracht. Der Transport erfolgte auf Trockeneis.

Ad (1) und (2):

Die PPIX-Fluoreszenz wurde mittels der inkohärenten Xenon-Bogen-Lichtquelle des Wellenlängenbereiches $\lambda = 380\text{-}420\text{ nm}$ (D-Light, Karl STORZ GmbH, Tuttlingen, Deutschland) angeregt [Zaak und Knüchel 1998]. Die Lichtübertragung erfolgte über ein spezielles Zystoskop (0° -Hopkins Optik, Karl STORZ GmbH, Tuttlingen, Deutschland) mit integriertem Lichtleitfaserbündel in dessen Okular ein Gelbfilter eingefasst ist. Dieser Gelbfilter erzeugt einen Farbkontrast zwischen der roten PPIX-Fluoreszenz und der im rückgestreuten Anregungslicht blau dargestellten normalen nicht PPIX-angereicherten Umgebung. Die Befunde wurden videodokumentiert und gleichzeitig schriftlich fixiert.

Bei einigen Präparaten wurden aus fluoreszierenden und nicht fluoreszierenden Arealen Fluoreszenzspektren mittels des optischen Vielkanalanalysator (OMA-System, SI-Spectroscopy & Imaging GmbH, Erwitte, Deutschland, generiert. Das Fluoreszenzlicht wurde hierzu über die Beobachtungsoptik des Zystoskops mittels eines Strahlteilers auf dem Okular an einen flexiblen Lichtwellenleiter (HCN 600) gekoppelt. Dieser war für den spektralen Nachweis im Wellenlängenbereich von $\lambda = 500\text{-}750\text{ nm}$ an den optischen Vielkanalanalysator angeschlossen.

Auswertung und Beurteilung der PPIX-Anreicherung:

Sämtliche mikroskopischen Befunde wurden von einer Pathologin (Prof. Dr. R. Knüchel, Pathologisches Institut der Universität Regensburg) erhoben.

Hierzu wurden die Gefrierschnitte fluoreszenzmikroskopisch (DM IRBE, Leica GmbH, Wetzlar, Germany) untersucht, die korrespondierenden benachbarten Schnitte Hämalaun-Eosin-gefärbt und zur Identifikation der Lokalisation lichtmikroskopisch (Axiolab, Carl Zeiss GmbH, Oberkochen, Germany) beurteilt.

Die Bewertung erfolgte nach 3 Kategorien: PPIX-Anreicherung im Stroma, den benignen Drüsenzellen und/oder den Karzinomzellen. Im Falle einer positiven PPIX-Anreicherung wurde diese nochmals in stark oder schwach durch den Untersucher stratifiziert.

Die Befunde wurden in dem in Tab. 4 dargestellten Auswertungsbogen festgehalten.

	Stroma	Benignes Drüsengewebe	Malignes Drüsengewebe
Fluoreszenz			

Tab. 4: Klassifikation der PPIX-Anreicherung im humanen Karzinom

- = keine Fluoreszenz
- + = Fluoreszenz schwach
- ++ = Fluoreszenz stark

3.1.4. Nebenwirkungen und Komplikationen

Die Patienten wurden in den ersten 24 Stunden nach Applikation der 5-ALA nicht direktem Kontakt mit Sonnenlicht oder starker künstlicher Beleuchtung ausgesetzt. Das Auftragen spezieller Sonnenschutzcremes („sun-blocker“) auf die Haut oder das Tragen von Gesichtsmasken wurde nicht durchgeführt.

Zur Überprüfung der Leber- und Nierenfunktion wurden prä- und postoperativ die entsprechenden Laborwerte (Kreatinin, Harnstoff, γ GT, GOT, GPT, Bilirubin, Quick-Wert) entnommen.

Eine routinemäßige Überwachung der Kreislaufparameter (Puls, Blutdruck) wurde prä-, intra- und postoperativ durchgeführt.

3.2. Photodynamische Therapie bei Patienten mit einem Prostatakarzinom

Ziel dieser Untersuchungen war es, die bislang gewonnenen Erkenntnisse aus den Kinetikuntersuchungen am humanen Karzinom, in einer ersten Pilotserie zu überprüfen. Als Zielkriterien wurden Veränderungen des PSA-Wertes definiert.

3.2.1. Patienten

Bei einem Patienten wurde im Rahmen einer radikalen Prostatovesikulektomie eine *intraoperative PDT* der Prostata vor der Entfernung des Organs durchgeführt. Bei 3 Patienten erfolgte eine *transurethrale interstitielle PDT* und bei 2 Patienten wurde ein *perinealer Zugangsweg* gewählt. Alle Patienten wurden vor Durchführung des Verfahrens über die Studie mittels eines ausführlichen Gesprächs und einer Patienteninformation aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis.

Intraoperative PDT:

Parameter	Patient 1
Alter (Jahre)	64
Gewicht (kg)	120
Gleasonscore (präop)	5 (2+3)
PSA (präop) (ng/ml)	6,6
Prostatagröße-TRUS (ml)	35

Transurethrale PDT:

Bei allen 3 Patienten war nach Erstdiagnose des Prostatakarzinoms eine Strahlentherapie der Prostata durchgeführt worden. Der PSA-Wert war bei allen 3 Patienten nach Erreichen des Nadirs in 3 konsekutiven Messungen angestiegen und die Prostatastanzbiopsien hatten bei allen Patienten vitales Tumorgewebe gezeigt, so dass von einem Lokalrezidiv nach Durchführung der Strahlentherapie ausgegangen werden musste.

Die Staginguntersuchungen (Computertomographie des Abdomens, Röntgen-Thorax und Skelettszintigraphie) hatten keinen Hinweis für eine Fernmetastasierung erbracht.

Parameter	Patient 2	Patient 3	Patient 4
Alter (Jahre)	58	71	69
Gewicht (kg)	140	70	83,5
Gleasonscore (präop)	6 (3+3)	7 (3+4)	IIb
PSA (präop) (ng/ml)	8,7	5,9	7,5
Prostatagröße-TRUS (ml)	22	28	10

Perineale PDT:

Bei 2 Patienten wurde eine perineale PDT durchgeführt.

Patient Nr. 5 lehnte nach Erstdiagnose ein operatives Verfahren oder eine Strahlentherapie ab. Patient Nr. 6 befand sich seit 3 Jahren in einer watchful-waiting-Therapie. Aufgrund steigender PSA-Werte wurde die Indikation zur aktiven Therapie gestellt.

Parameter	Patient 5	Patient 6
Alter (Jahre)	74	76
Gewicht (kg)	80	64
Grading (präop)	G IIa	-
PSA (präop) (ng/ml)	10,6	4,9
Prostatagröße-TRUS (ml)	55	26

3.2.2. Lasersystem, Lichtapplikationssystem und Lichtdosimetrie

Lasersystem

In der vorliegenden Studie diente ein Diodenlaser (CeraLas 633, BioLitec GmbH, Jena) als Strahlungsquelle und emittierte die Wellenlänge 633 nm um den Photosensibilisator in seiner 4. Q-Bande bei hinreichender optischer Eindringtiefe in das Gewebe für die PDT anzuregen (siehe Abbildung 2). Dieses System

ermöglicht eine online Leistungskalibrierung an die vom Lichtapplikationssystem distal abgestrahlte Leistung. Nach Eingabe der Bestrahlungsparameter Leistung und Dauer wird das Laserlicht nach Aktivierung emittiert, schaltet entsprechend der vorgegebenen Parameter automatisch ab und ist nach Positionswechsel des Lichtapplikationssystems sofort wieder einsatzbereit.



Abb. 2: Diodenlaser (CeraLas PDT 633, CeramOptec GmbH, Bonn)

Lichtapplikationssystem

Das Lichtapplikationssystem bestand aus einem Lichtwellenleiter mit distal aufgesetzter Diffusorspitze von 10 mm aktiver Länge und 1,8 mm Durchmesser (Model: IDI-112T-10, LF001; Indigo Medical – ETHICON Endo Surgery GmbH, Norderstedt). Dieser Applikator entsprach in optimaler Weise der Voraussetzung für die interstitielle PDT des PCA und kann mit einem konventionellen urologischen Applikationssystem, das für die interstitielle Therapie der benignen Prostatahyperplasie verwendet wird [Muschter und Hofstetter 1995], positioniert werden. Eine nahezu homogene Abstrahlung entlang der aktiven Strahlerlänge ermöglicht eine einfache und optimale Lichtdosimetrie.

Lichtdosimetrie

Auf der Basis tierexperimenteller Ergebnisse [Sroka et al 2003] wurde festgelegt, dass auf einer den Diffusor in 4 mm Entfernung umgebenden Zylinderoberfläche eine mittlere Energiedichte von 50 J/cm² appliziert werden soll. Der Diffusortip emittiert nach Kalibrierung des Systems 0,5 W Laserlichtleistung auf einer aktiven Länge von 10 mm. Die Beleuchtungsdauer pro Position des Diffusors im Gewebe

beträgt 500 s. Daraus resultiert eine applizierte Energie pro Position von 250 J. Diese Dosimetrieparameter sind in Tab. 4 aufgelistet. In Abhängigkeit der Größe der Prostata wurden unterschiedliche Positionen und individuell viele Einstiche (Lichtapplikationen) gewählt. Die total applizierte Laserlichtenergie entspricht, dem Produkt aus der Anzahl der Positionen und der pro Position applizierten Energie und ist somit individuell.

Parameter für die transurethrale PDT des PCA	Wert
Wellenlänge	635 nm
Distale Lichtleistung bei 1cm aktiver Strahlerlänge	0,5 W
Bestrahlungsdauer pro Position	500 s
Applizierte Energie pro Position	250 J

Tab. 5: Dosimetrieparameter der PDT am humanen Karzinom

3.2.3. 5-Aminolävulinsäure (5-ALA)

5-ALA (5-Aminolävulinsäure-Hydrochlorid; medac GmbH, Wedel, Deutschland) wurde zur Herstellung einer gebrauchsfertigen Lösung in Trinkwasser gelöst. Nach oben genanntem Schema erhielten die Patienten 20mg 5-ALA/kg KG (KG = Körpergewicht des Patienten).

Alle Patienten erhielten die 5-Aminolävulinsäure 3 - 5 Stunden präoperativ zum Trinken.

Die Patienten wurden angehalten in den ersten 24 Stunden nach Aufnahme von 5-ALA den Kontakt mit starkem Sonnenlicht zu meiden.

3.2.4. Versuchsablauf

Intraoperative PDT:

Nach präoperativer Applikation der 5-Aminolävulinsäure wurde eine retropubische radikale Prostatovesikulektomie durchgeführt. Nach Eröffnung der endopelvinen Faszie, Präparation des Apex der Prostata und Durchtrennung der Harnröhre wurde in typischer Weise die Prostata in der ascendierenden Operationstechnik nach Walsh freigelegt [Walsh 1998]. Zu diesem Zeitpunkt bestanden suffiziente

Durchblutungsverhältnisse bei freiliegendem Organ. Nun wurden im Bereich des Apex und im mittleren Drittel der Prostata insgesamt 3 Lichtwellenleiter (HCN 600) hintereinander interstitiell platziert. In diesem Bereich war in der präoperativen Prostatastanzbiopsie ein positiver Tumornachweis geführt worden. Die Induktion der PDT erfolgte mit den unter 3.2.2. aufgeführten Bestrahlungsparametern. Nach Abschluss der PDT wurde das Organ entfernt und der operative Eingriff mit der Anastomosierung des Blasenhalses mit der Urethra beendet. Das Präparat wurde in flüssigem Stickstoff eingefroren, bei -70°C gelagert und dann zur weiteren histologischen Aufarbeitung in das Institut für Pathologie der Universität Regensburg gebracht. Der Transport erfolgte auf Trockeneis.

Transurethrale PDT:

Nach präoperativer Applikation der 5-Aminolävulinsäure wurden die Patienten nach Einleitung des Narkoseverfahrens in Steinschnittlage gebracht.

Anschließend erfolgte das videoendoskopische Eingehen in die Urethra mit dem Zystoskop bis in die Prostataloge. Nach Durchführung einer orientierenden Urethrozystoskopie mit präoperativer Videodokumentation des Schießmuskelspiels wurden die Lichtwellenleiter, unter Zuhilfenahme eines für die Laserkoagulation der benignen Prostatahyperplasie konzipierten Applikatorensystems (Fa. Karl STORZ GmbH; Tuttlingen), in einem Winkel von ca. 70° von der Urethra aus in die Seitenlappen der Prostata platziert.

Mittels transrektaler Ultraschallkontrolle in 2 Ebenen wurde die suffiziente Lichtwellenleiterposition dokumentiert bzw. korrigiert. Die photodynamische Therapie wurde entsprechend den o.g. Bestrahlungscharakteristiken durchgeführt.

Nach Abschluss der Therapie wurde nochmals eine orientierende Urethrozystoskopie durchgeführt, das Schließmuskelspiel geprüft und ein Dauerkatheter eingelegt. In Abbildung (3) ist der komplette operative Aufbau dargestellt.

Der Katheter wurde am 1. postoperativen Tag entfernt. Im Falle einer beschwerdefreien Miktion wurden die Patienten aus dem stationären Aufenthalt entlassen.

Bei den 3 Patienten wurde zur Evaluierung möglicher therapiebedingter Veränderungen des PCA am Tag vor der PDT und bis zum 8. Tag nach PDT eine

MRT-Untersuchung bei 1,5T (Magnetom Vision, Siemens Medizinsysteme, Erlangen) unter Einsatz der Endorektalspule durchgeführt.

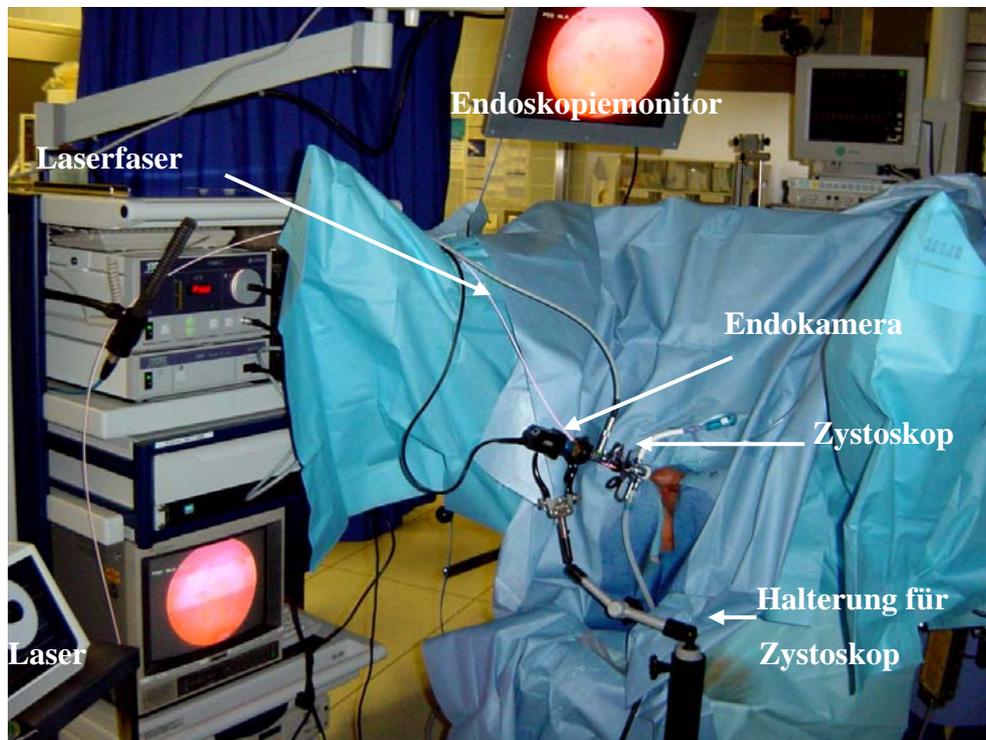


Abb. 3: Operativer Aufbau zur transurethralen PDT.

Perineale PDT:

Nach präoperativer Applikation der 5-Aminolävulinsäure wurden die Patienten nach Einleitung des Narkoseverfahrens in Steinschnittlage gebracht.

Das Perineum des Patienten wurde eingestellt und ein speziell gefertigtes Applikationssystem angebracht. Dieses, den Applikationssystemen der perinealen Brachytherapie ähnliche Template, bestand aus einer rechteckigen Metallkonstruktion in die in 0,5 cm großen Abständen vertikal und horizontal Löcher gestanzt waren. Über die Löcher konnten Lichtleiterfasern unter transrektaler Ultraschallkontrolle in die Prostata eingeführt werden (Abb. 4).

In einem ersten Schritt wurde ein Template mit Haltenadeln in der Prostata fixiert. Somit war gewährleistet, dass die im Anschluss eingeführten Lichtleiterfasern in definierten Abständen in vertikaler und horizontaler Richtung in der Prostata platziert waren.

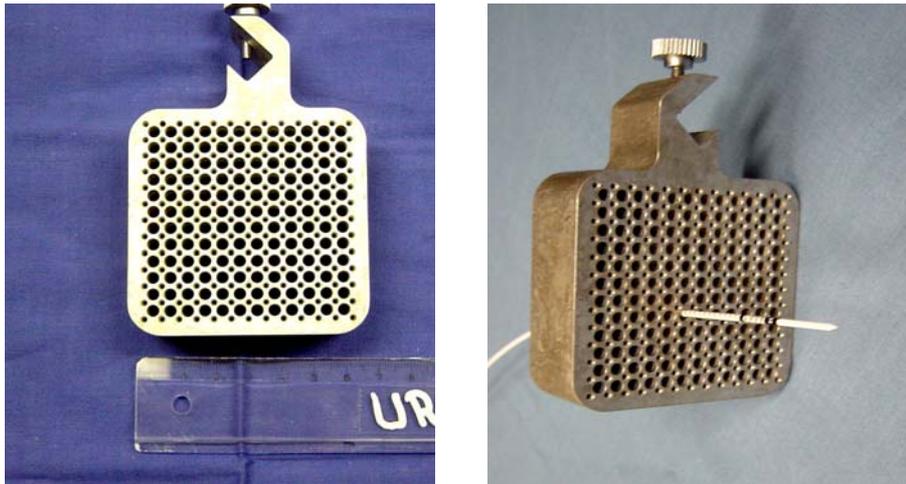


Abb. 4: Applikationssystem (Template) zur Steuerung der perinealen Lichtleiterfaserapplikation

Der photodynamische Prozess wurde wieder mit Licht des Diodenlasers (CeraLas PDT 633, CeramOptec GmbH, Bonn) der Wellenlänge $\lambda = 633 \text{ nm}$ induziert. Mittels transrektalem Ultraschall war eine exakte Lokalisation und Dokumentation der Lichtleiterpositionen möglich (Abb. 5). Nach Abschluss der perinealen PDT wurde ein transurethraler Dauerkatheter eingelegt.

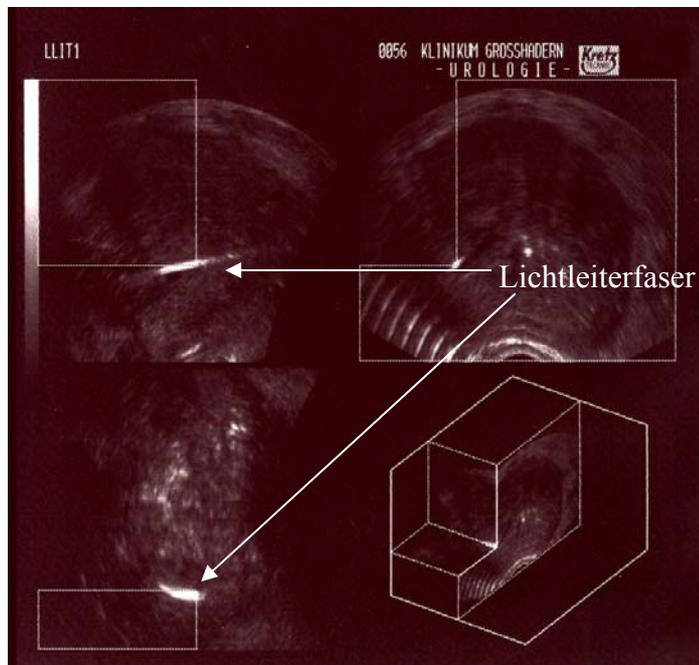


Abb. 5: Transrektaler Ultraschallbefund in 3 Ebenen: Lichtleiterfasern in der Prostata

3.2.5. Auswertung und Beurteilung der Befunde

Intraoperative PDT:

Zur Beurteilung möglicher früher Zellveränderungen durch die PDT wurde die Prostata in den behandelten Abschnitten von Fr. Prof. Dr. R. Knüchel-Clarke untersucht.

Transurethrale und perineale PDT

6 Wochen nach Durchführung der PDT erfolgte die Bestimmung des PSA-Wertes. Die weiteren Bestimmungen erfolgten in vierteljährlichen Abständen.

3.2.6. Nebenwirkungen und Komplikationen

Die Patienten wurden bis 48 Stunden nach Aufnahme von 5-ALA hinsichtlich der Entwicklung einer phototoxischen Hautreaktion beobachtet. Die Patienten wurden angehalten in den ersten 24 Stunden nach Aufnahme von 5-ALA den Kontakt mit starkem Sonnenlicht zu meiden. Das Auftragen spezieller Sonnenschutzcremes („sun-blocker“) auf die Haut oder das Tragen von Gesichtsmasken wurde nicht durchgeführt.

Zur Überprüfung der Leber- und Nierenfunktion wurden prä- und postoperativ die entsprechenden Laborwerte (Kreatinin, Harnstoff, γ GT, GOT, GPT, Bilirubin, Quick-Wert) entnommen.

Eine routinemäßige Überwachung der Kreislaufparameter (Puls, Blutdruck) wurde prä-, intra- und postoperativ durchgeführt.

4. Ergebnisse

4.1. PPIX-Lokalisation

Um eine PDT mit 5-ALA induziertem PPIX im humanen Prostatakarzinom durchzuführen, war es erforderlich zunächst zu prüfen,

1. ob eine PPIX-Anreicherung im humanen Karzinom stattfindet,
2. inwiefern diese Anreicherung auf das gesamte Organ oder lediglich auf die drüsigen Anteile beschränkt ist.

Nach Entnahme der Organe wurden diese in einem abgedunkelten Raum zunächst makroskopisch beurteilt. Anschließend erfolgte die Teilung der Prostata in longitudinale, ca. 0,5 cm dicke Schnitte welche abhängig von der Größe der Prostata waren. Diese wurden systematisch vom Apex der Prostata bis zur Basis geschnitten und nummeriert.

Die Schnittflächen wurden makroskopisch nach PPIX-Anreicherung mittels der Xe-Bogen-Lampe beurteilt und zum Teil spektral untersucht. Nach Videodokumentation erfolgten dann die Konservierung und der Transport zur weiteren fluoreszenzmikroskopischen- und histopathologischen Untersuchung die entsprechend den in Kapitel 3.1.3. dargelegten Kategorien durchgeführt wurde.

In Tabelle 6 sind die histopathologischen Diagnosen der Prostatakarzinome mit dem entsprechenden Fluoreszenzverhalten aufgeführt:

Nr.	Gleason-Score	TNM	PPIX-Anreicherung		
			Stroma	Epithel	Karzinom
1	5 (3+2)	pT2b,pN0,cM0	-	-	++
2	6 (3+3)	pT2b, pN0, cM0	-	-	++
3	7 (4+3)	pT3a, pN0, cM0	-	-	++
4	5 (3+2)	pT1c, pN0, cM0	-	-	?
5	6 (3+3)	pT3a, pN0, cM0	-	-	++
6	6 (3+3)	pT3a, pN0,cM1	-	-	++
7	6 (3+3)	pT2b, pN0, cM0	-	-	++
8	8 (4+4)	pT3a, pN0, cM0	-	-	++
9	6 (3+3)	pT2b, pN0, cM0	-	-	++
10	6 (3+3)	pT1a, pN0, cM0	-	-	?
11	6 (3+3)	pT2b, pN0, cM0	-	-	++
12	4 (2+2)	pT2a, pN0, cM0	-	-	++
13*	7 (3+4)	pT2b, pN0, cM0	-	-	+
14	4 (2+2)	pT2a, pN0, cM0	-	-	++
15 [#]	7 (3+4)	pT2b, pN0, cM0	-	-	++

Tab. 6: PPIX-Anreicherung in den Prostatektomiepräparaten in Korrelation zum Tumorstadium und Grading

(- = keine Fluoreszenz; + = Fluoreszenz schwach; ++ = Fluoreszenz stark)

? = Bei diesen Patienten fand sich im Prostatektomiepräparat kein Tumor

* = ALA-Applikation 2 Stunden vor Organentnahme

= ALA-Applikation 12 Stunden vor Organentnahme

Bei zwei Patienten war im Prostatektomiepräparat kein Karzinom mehr nachweisbar. Alle übrigen Karzinome zeigten eine vollständige PPIX-Anreicherung. Diese wurde bis auf eine Ausnahme als stark klassifiziert (12/13 ++; 1/13 +). Bei dem Karzinom mit der schwächeren PPIX-Fluoreszenz handelte sich um denjenigen Patienten, dem die 5-ALA 2 Stunden vor Entnahme der Prostata über eine Magensonde appliziert wurde.

Gleason Score, TNM-Klassifikation, Grading und Tumolvolumen wurden für jedes Präparat einzeln beurteilt.

In keinem Fall (0/15) war eine PPIX-Anreicherung im Stroma der Prostatadrüse oder in benignen Drüsenzellen nachzuweisen.

Die Abbildungen 6, 7 und 8 verdeutlichen diesen Sachverhalt mit der Darstellung eines typischen PPIX-Spektrums und den Gefrierschnitten in der Fluoreszenzmikroskopie bei einem Patienten mit einem Gleason-6 Karzinom.

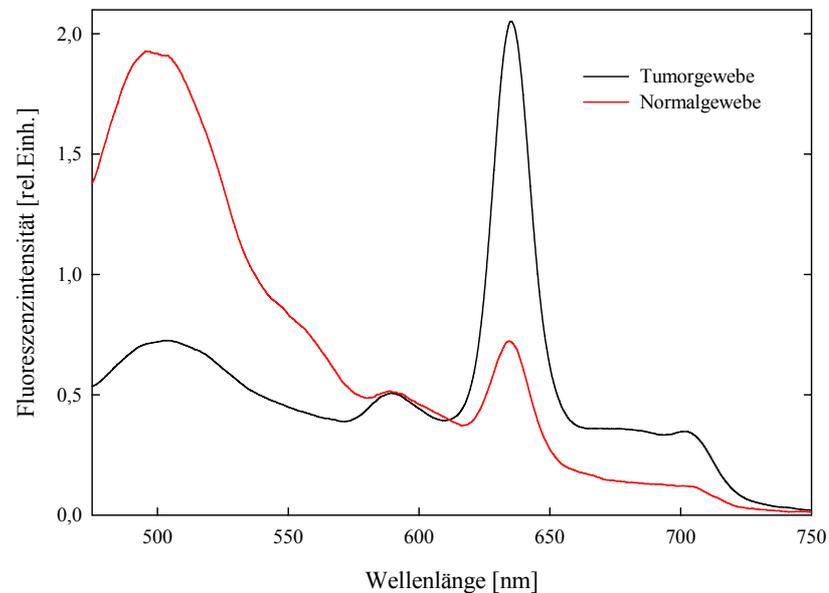


Abb. 6 : Spektrale Untersuchung der Prostata nach Applikation von 5-ALA. Nachweis eines typischen PPIX-Fluoreszenzspektrums gegenüber dem normalen Gewebe dieser Prostata (Stroma und Drüsenanteile).

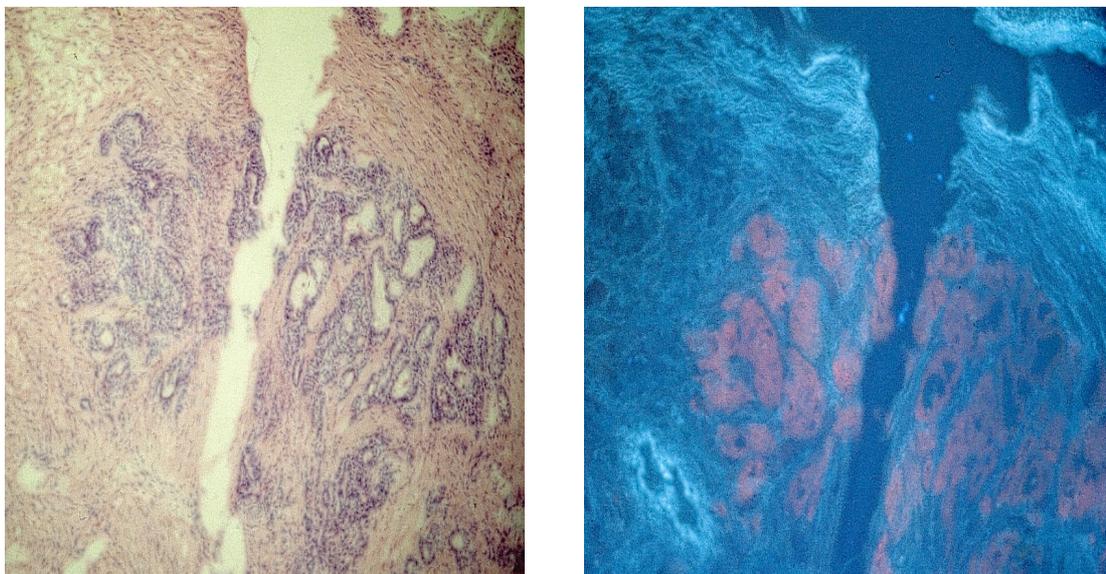


Abb. 7 : PPIX-Anreicherung in einem Prostata-Karzinom (Gleason 6). HE-Schnitt (links) und korrespondierender Gefrierschnitt in der Fluoreszenzmikroskopie: Die PPIX-Anreicherung ist auf das Karzinom beschränkt. Das umgebende Stroma reichert kein PPIX an.

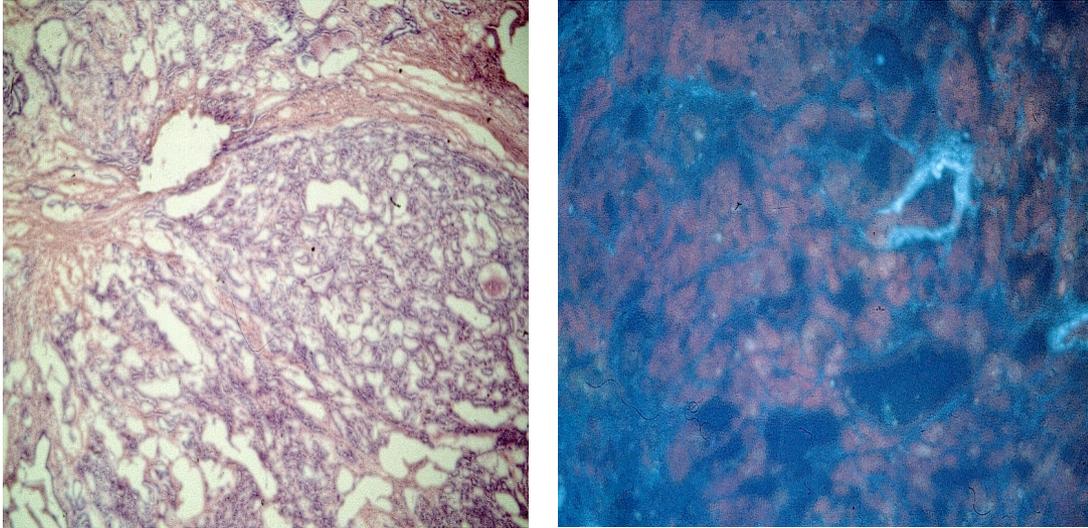


Abb. 8 : PPIX-Anreicherung in einem Prostata-Karzinom (Gleason 6). HE-Schnitt (links) und korrespondierender Gefrierschnitt (rechts) in der Fluoreszenzmikroskopie: Vergrößerung von Abb. 7. Die Vergrößerung verdeutlicht, dass die PPIX-Anreicherung streng auf das Karzinom beschränkt ist.

4.2. Photodynamische Therapie bei Patienten mit einem Prostatakarzinom

4.2.1. Intraoperative PDT

Nach drei Applikationen von je 100 J/cm^2 über 1000s mit wurde das Organ entnommen und anschließend histopathologisch untersucht.

Es fanden sich in diesen Arealen multifokale Herde eines mittelgradig differenzierten Adenokarzinoms mit z.T. cribriformem Wachstumsmuster mit dazwischen liegendem Stroma. In diesen Arealen konnte der Nachweis von Herden mit Zelldissoziationen und geringfügiger Einblutung sowie Epithelnekrosen geführt werden.

In Abbildung 9 ist ein HE-Schnitt aus diesem Bereich dargestellt.

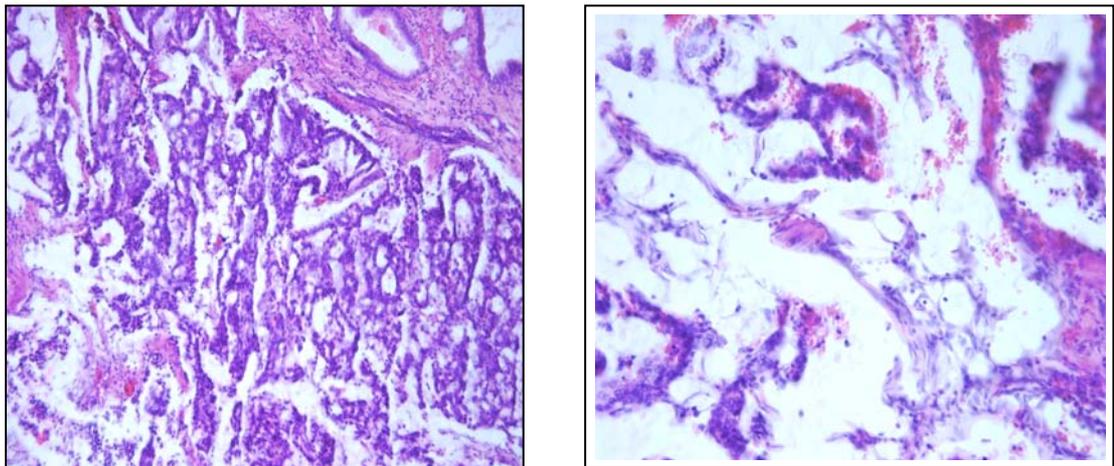


Abb. 9: Prostatakarzinom bei Z. n. PDT. Nachweis von Zelldissoziationen und geringfügigen Einblutungen (rechts).

4.2.2. Transurethrale PDT

Pro $2\text{-}3 \text{ cm}^2$ präoperativ transrektal bestimmtem Prostatavolumen erfolgte eine Applikation mit 250-275 J. 6 Wochen nach Durchführung der PDT wurden die PSA-Werte bestimmt.

Bei allen Patienten kam es zu einem Abfall der PSA-Werte im Durchschnitt um 45%. Die geringe Fallzahl ließ einen statistischen Vergleich des PSA-Verlaufes nicht zu. Bei allen 3 Patienten kam es nach Erreichen dieses Nadirs wieder zu einem Anstieg des PSA, der nach 3-12 Monaten noch unter dem Ausgangswert lag.

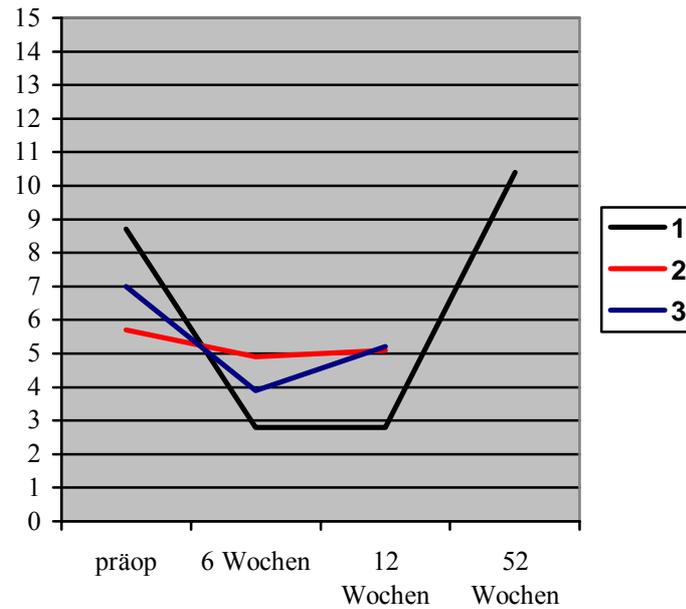


Abb. 10: PSA-Verlauf im Rahmen der transurethralen PDT

MRT-Untersuchungen

Bei allen 3 Patienten war vor und nach der PDT eine MRT-Untersuchung zur Evaluierung möglicher bildgebend darstellbarer Veränderungen durchgeführt worden.

Wie in Abbildung 11 dargestellt, zeigte sich bei allen Patienten nach Durchführung der PDT eine Signalabnahme im Bereich des PCA in den T2-gewichteten Aufnahmen sowie eine gering ausgeprägtes Ödem der Prostata.

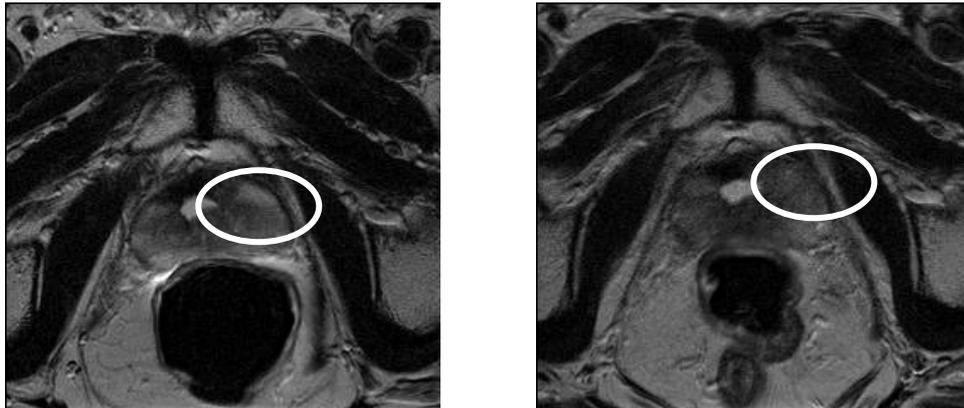


Abb. 11: T2-gewichtete MRT-Aufnahmen der Prostata vor (links) und nach (rechts) PDT. Die Kreise umgeben das signalgeminderte Prostatakarzinom, das in diesem Bereich auch stanzbiologisch nachgewiesen werden konnte.

4.2.3. Perineale PDT

Bei 2 Patienten wurde eine photodynamische Therapie mit perinealer Applikation der Lichtleiterfasern durchgeführt. Die entsprechenden Bestrahlungscharakteristiken sind Tab. 7 zu entnehmen.

Parameter	Bestrahlungscharakteristiken	
Patient	4	5
Prostatagröße TRUS [cm ²]	55	26
Anzahl der Applikationen [n]	54	39
Op-Dauer [min]	280	240
Applizierte Gesamtenergie [J]	10.800	9.360

Tab. 7: Bestrahlungscharakteristiken der perineal behandelten Patienten

Bei beiden Patienten kam es nach PDT zu einem Abfall des PSA-Wertes um 30% bzw. 50%. Im weiteren Verlauf war auch bei diesen Patienten wieder ein Anstieg des PSA-Wertes zu beobachten.

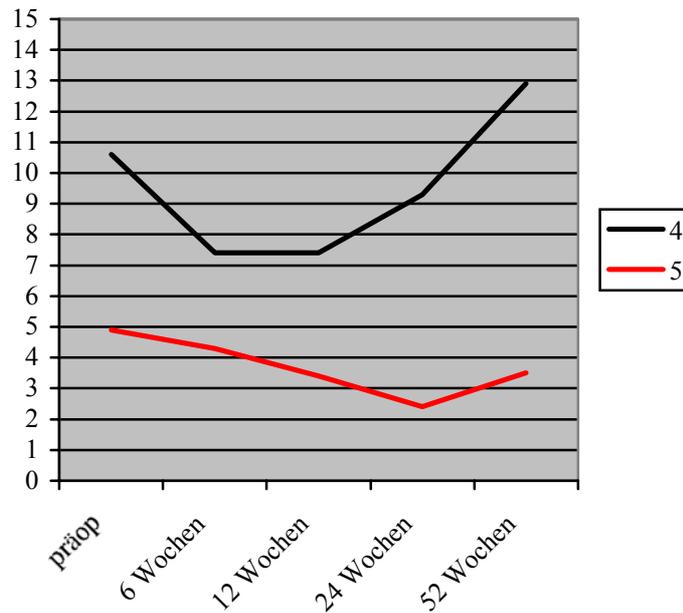


Abb. 12: PSA-Verlauf im Rahmen der perinealen PDT

4.2.4. Nebenwirkungen

Bei keinem dieser Patienten kam es intra- oder perioperativ zum Auftreten von Komplikationen, im Sinne einer kutanen Phototoxizität, kardiopulmonalen Störungen oder gastrointestinalen Nebenwirkungen.

Die postoperativ entnommenen Leberfunktionsparameter (γ -GT, GOT, GPT, Quick-Wert, PTT, PCHE) zeigten keine Veränderung zu den präoperativ entnommenen Werten.

Die postoperativen Ultraschallkontrollen zeigten keinen Anhalt für eine Harnstauung auf dem Boden einer Ureterobstruktion. Die Harnblasen konnten restharnfrei und kontinent entleert werden, ohne Anhalt für dysurische Beschwerden.

5. Diskussion

Untersuchungen des Tumorregisters München haben gezeigt, dass in den letzten Jahren die Inzidenz des PCA in der männlichen Bevölkerung um 50 % zugenommen hat.

Im Zeitraum 1987-1989 erkrankten im Stadtgebiet München 50,5 Männer/100.000 Einwohner an einem Prostatakarzinom. 1996-1998 waren dies 100,9. 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].

Ein ähnlicher epidemiologischer Verlauf wird auch in den USA beschrieben. Daten aus dem Department of Defense Center for Prostate Disease Research aus Washington DC, zeigen eine signifikante Erhöhung der organbegrenzten Tumorstadien, verbunden mit einer Reduktion des Alters zum Zeitpunkt der Diagnosestellung [Moul et al. 2002].

Verantwortlich für diese epidemiologischen Veränderungen ist in erster Linie die breite Anwendung des prostataspezifischen Antigens im Rahmen der Vorsorgeuntersuchungen des Prostatakarzinoms [Etzioni et al. 2002, Hammerer und Semjonow 2000].

Durch den breiten Einsatz des PSA-Screenings ist es auch zu einem „Stadienschiff“ gekommen. So lag der Anteil der Patienten in der „vor PSA-Ära“, die bereits bei Diagnosestellung Metastasen aufwiesen, bei 33%. In den letzten Jahren ist dieser Anteil im Bereich des Tumorzentrums München auf ca. 7% gesunken.

Das bedeutet, dass heutzutage mehr Prostatakarzinome diagnostiziert werden und diese Karzinome vermehrt in einem lokal begrenzten, und damit potentiell kurativ behandelbaren Stadium vorliegen.

Die potentiell kurativen Standardtherapieverfahren, die dem Patienten bei der Diagnose eines lokal begrenzten Karzinoms zur Verfügung stehen, die radikale Prostatovesikulektomie (RPVE) und die Strahlentherapie, weisen effiziente onkologische Behandlungsergebnisse auf. So werden nach RPVE tumorspezifische 10 Jahres-Überlebensraten von bis zu 95 % angegeben [Han et al. 2001]. Allerdings ist der operative Eingriff mit einer nicht unerheblichen Rate an Komplikationen und Folgeerscheinungen, wie der Inkontinenz und der Impotenz verknüpft (Catalona et al. 1993, Eastham et al. 1996, Zincke et al. 1994).

Stehen bei der RPVE die Impotenz und Inkontinenz sowie die operative Morbidität im Vordergrund dominieren bei der Strahlenbehandlung die akute, aber auch lang anhaltende Strahlenzystitits, die Proktitis oder Enteritis [Andriole 1994, Lu-Yao et al. 1993].

Die nicht unerheblichen Begleiterscheinungen der Strahlentherapie und RRP waren in den letzten Jahren die Ursache für ein breites wissenschaftliches Interesse in der Entwicklung alternativer bzw. minimal-invasiver Behandlungsmaßnahmen.

Beim **Hoch Intensiven Fokussierten Ultraschall (HIFU)** führt die Fokussierung transrektal applizierter Ultraschallwellen in der Prostata zu einer Koagulationsnekrose des Gewebes. Die Ablation durch thermische Energie wirft allerdings mehrere Probleme bzw. Fragestellungen auf. Mittlerweile wurden mehrere klinische Studien durchgeführt, die zeigen konnten, dass 50% der Patienten postoperativ nicht mehr nachweisbare Serumwerte für das PSA aufweisen (Chapelon et al 1999). Die Langzeitergebnisse stehen zur Zeit noch aus. Hinsichtlich der initial beobachteten Stressinkontinenzen in bis zu 25 % der Fälle wurde eine Modifikation des Koagulationsfokus am Apex der Prostata vorgenommen [Thüroff und Chaussy 2001]. Aufgrund dieser Aussparung am Apex der Prostata erfolgt keine Therapie in dieser Sicherheitszone, obwohl in diesem Bereich mit einer erhöhten Rate an Tumorwachstum gerechnet werden muss (Kausik et al. 2002). 30 % der Patienten nach HIFU klagten im postoperativen Verlauf über Harnverhalte und ausgeprägte dysurische Beschwerden [Beerlage et al. 2000]. Aus diesem Grunde ist man dazu übergegangen, parallel zum HIFU eine transurethrale Resektion der Prostata (TUR-P) durchzuführen [Thüroff und Chaussy 2001]. Diese Kombinationsbehandlung aus TUR-P und HIFU macht das Verfahren invasiver, und darüber hinaus ist die Hypothese ungeklärt, ob die PSA-Abfälle nicht Ursache der parallel durchgeführten TUR-P sind.

Die onkologischen Daten zur **Kryoablation** der Prostata werden sehr kontrovers diskutiert. Donnelly et al. publizierten Daten einer prospektiven Phase-II-Studie, in der Patienten mit einem klinisch lokal begrenzten Prostatakarzinom mittels Kryotherapie behandelt wurden [Donnelly et al. 2002]. Die Autoren schlussfolgerten, dass es sich bei der Kryotherapie um eine effektive Option in der kurativen Therapie des Prostatakarzinoms handelt. Diese Aussage muss allerdings bei kritischer Wertung der Studie bezweifelt werden. Zwar war nach 5 Jahren fast kein Patient an seinem Prostatakarzinom gestorben, jedoch wiesen nur insgesamt

58,5 % der Patienten nach 5 Jahren keine Tumoraktivität, d.h. einen PSA < 0,5 ng/ml, auf. Bei mehr als 40 % der Patienten war nach 5 Jahren somit wieder eine Tumoraktivität messbar. Neben den onkologischen Ergebnissen muss bei der Kryotherapie auch die hohe Rate an Komplikationen als limitierender Faktor für eine sogenannte minimal-invasive Methode [Beerlage et al. 2000] gelten. Hinsichtlich der therapiebedingten Folgeerscheinungen berichteten 90 % der initial potenten Männer über eine anhaltende erektile Dysfunktion nach der Kryotherapie, in 15 % der Fälle war aufgrund protrahierten Abgangs von nekrotischem Schleim eine transurethrale Resektion der Prostata notwendig und 18 % der Patienten wiesen eine Stressinkontinenz unterschiedlicher Ausprägung auf. Die Autoren schlussfolgerten, dass aufgrund der nicht unerheblichen Komplikationsraten und der auch in dieser Studie ungenügenden onkologischen Ergebnisse (38 % progressionsfreies Überleben nach 5 Jahren) die Kryotherapie keine Alternative in der Behandlung des lokal begrenzten PCA sei.

Vor diesem Hintergrund versuchen derzeit mehrere Arbeitsgruppen mit der Evaluierung der photodynamischen Therapie ein weiteres minimal-invasives Verfahren mit effizienten onkologischen Ergebnissen in der Behandlung des lokal begrenzten Prostatakarzinoms zu validieren.

Die PDT ist eine in der Urologie etablierte und umfangreich evaluierte Behandlungsoption. Obwohl die PDT-Behandlung noch immer an die Expertise und technische Ausstattung größerer Zentren gebunden ist, hat diese Behandlungsform v.a. beim Harnblasenkarzinom den experimentellen Status verlassen und wird bei ausgewählten Patienten bereits in der Routine eingesetzt (Jichlinski et al 2001).

Bisher haben sich allerdings nur sehr wenige Arbeitsgruppen mit der phototherapeutischen Potenz der Photosensibilisatoren der II. Generation in der Behandlung des PCA beschäftigt. Erste Tierexperimente der eigenen Arbeitsgruppe konnten einen signifikanten Effekt dieser Therapie mittels 5-ALA induziertem PPIX am PCA nachweisen (Zaak et al. 2004).

Aufbauend auf den in diesen tierexperimentellen Untersuchungen gewonnenen Erkenntnissen war es das Ziel der vorliegenden Promotionsarbeit erste Untersuchungen am humanen Karzinom durch zu führen.

Doch vor Durchführung einer PDT am humanen Karzinom war es zunächst erforderlich die Anreicherung des Photosensibilisators in humanen

Prostatakarzinomen nach zu weisen, d.h. die unabdingbare Voraussetzung für eine mögliche Therapie zu validieren.

Hierbei zeigte sich in allen untersuchten Prostatektomiepräparaten eine hochselektive Anreicherung des von PPIX, wohingegen in den benignen Drüsenabschnitten, als auch im umgebenden Stroma, sowohl spektral als auch fluoreszenzmikroskopisch kein PPIX nachgewiesen werden konnte. Es zeigte sich auch kein Zusammenhang zwischen dem Differenzierungsgrad des Tumors, dem Gleason Score, den initialen PSA-Werten und der Intensität der Fluoreszenz.

Entsprechend den von der eigenen Gruppe durchgeführten Kinetikuntersuchungen konnte auch am humanen Karzinom eine suffiziente PPIX-Akkumulation ca. 4-6 Stunden nach Applikation der 5-ALA gezeigt werden. Die Kontrollen, bei denen eine kürzere oder längere Inkubationszeit gewählt worden war zeigten zwar auch eine PPIX-Akkumulation, die jedoch schwächer war als nach ca. 4 Stunden.

Bei keinem der Patienten kam es während der Therapie zum Auftreten von Komplikationen, insbesondere im Sinne einer kutanen Phototoxizität oder kardialer Probleme. Die postoperativ durchgeführten Laboruntersuchungen bezüglich der Leber- und Nierenfunktion zeigten ebenfalls keine pathologischen Ergebnisse.

Aufbauend auf diesen Erkenntnissen führten wir dann in einem Pilotversuch erste Untersuchungen zur PDT an Patienten mit einem Prostatakarzinom durch. Ziel dieser Phase-I-Studie war zum einen die Durchführbarkeit der Therapie zu validieren und mögliche Nebenwirkungen zu dokumentieren. Als Parameter einer möglichen Effizienz wurde bei diesen Patienten postoperative Veränderungen des PSA-Wertes definiert.

Nur wenige Arbeitsgruppen haben sich bislang ebenfalls mit dem klinischen Einsatz der PDT beim humanen Prostatakarzinom beschäftigt. Neben der bereits erwähnten Studie von Windahl et al. gibt es bislang nur eine weitere Publikation zur PDT am humanen Karzinom. Nathan et al. berichten über ihre Ergebnisse einer Phase-I/II-Studie zur PDT, die beim Auftreten eines Lokalrezidives nach der Strahlentherapie bei Patienten mit einem PCA durchgeführt wurde [Nathan et al. 2002]. In dieser Studie wurde mTHPC als Photosensibilisator verwendet. Ziel der Studie war einerseits die Effektivität und zum zweiten die Sicherheit in der Anwendung zu evaluieren. Die Autoren betonen, dass die PDT nicht ausgelegt war, die komplette Drüse zu behandeln, sondern zunächst anhand der postoperativen Stanzbiopsie und der PSA-Verläufe Anhaltspunkte über die Effektivität der PDT bei Applikation bei

unterschiedlichen Energiedosen zu gewinnen. Insgesamt wurde bei 14 Patienten eine PDT mit perinealem Zugang der Lichtwellenleiter zur Prostataadrüse durchgeführt. Als Ausschlusskriterien wurden lokal fortgeschrittene Tumoren oder Fernmetastasen definiert. Nach Applikation von 20 J (n = 5 Patienten) konnte bei keinem Patienten ein Rückgang des PSA-Wertes im postoperativen Beobachtungszeitraum festgestellt werden. 4 der Patienten, die nach Applikation von 20 J kein Ansprechen der PDT gezeigt hatten sowie 9 weitere Patienten wurden daraufhin mit einer Energiedosis von 50 J (n = 13 Patienten) behandelt. Bei 4 der 13 Patienten (30 %) trat kein PSA-Abfall ein; diese Patienten wurden antiandrogen weiterbehandelt. Bei den übrigen 9 Patienten wurden PSA-Abfälle im Mittel um 60 % festgestellt. In der Folgezeit konnten bei 5 von diesen 9 Patienten in den ersten 4 Monaten aktive Tumorzellen in den stanzbiptischen Kontrollen der Drüsen nachgewiesen werden. Bei allen 9 Patienten stieg der PSA-Wert innerhalb der ersten 6 Monate nach der Therapie wieder an.

Die rein onkologischen Ergebnisse der Studie von Nathan et al. decken sich mit den Daten unserer eigenen Patienten, obwohl sich die photodynamischen Therapien in diesen beiden Studien in mehreren Punkten voneinander unterscheiden. In Tabelle 8 sind die Parameter der photodynamischen Therapie unserer Studie den Parametern aus der Arbeit von Nathan vergleichend gegenübergestellt.

Wie aus der Tabelle hervorgeht haben die 3 transurethral behandelten Patienten, analog der Studie von Nathan et al. ein Lokalrezidiv nach Strahlentherapie entwickelt. Bei den beiden Patienten, bei denen die Lichtwellenleiter perineal appliziert wurden, war keine aktive Vortherapie ihres PCA erfolgt. Aufgrund der höheren Lichttoxizität von mTHPC wurde weniger Energie appliziert. Nachteilig wirkt sich diese Eigenschaft von mTHPC bei der kutanen Phototoxizität aus, die zur Prophylaxe einen 14-tägigen Sonnenschutz in der Arbeit von Nathan et al. notwendig machte [Nathan et al. 2002].

	Nathan et al.	Eigene Untersuchungen
Patienten	13	5
Photosensibilisator (PS)	mTHPC	5-ALA-induziertes PPIX
Applikation des PS	72 h vor PDT	5 h vor PDT
Zugang	Perineal	Perineal/transurethral
Anregungswellenlänge	652 nm	635/633 nm
Lichtwellenleiter	bare fiber mit core diameter 0.4mm	diffusor tip
Leistung	100-150 mW	50-490 mW/cm
Energie	1600J/Patient	2724 J/Patient
PSA-Abfall nach PDT	9/13	5/5
Lichtschutz	14 Tage*	1 Tag

Tab. 8 : Parameter der Studie von Nathan et al. und den eigenen Daten zur PDT des humanen Karzinoms.

Bei den bisherigen PDT-Patienten in unserer Studie war zunächst ein Abfall des PSA-Wertes im Mittel um ca. 50 % festzustellen. Bei allen Patienten kam es auch in unserer Serie im weiteren Verlauf zu einem erneuten Anstieg des PSA-Wertes, ähnlich den Patienten in der Studie von Nathan. Somit wurde bei diesem Kollektiv das primäre Studienziel erreicht, ein Ansprechen des PSA-Wertes im Sinne der Reduktion des PCA-Verlaufsmarkers infolge der PDT zu evaluieren.

In der weiteren Entwicklung der PDT müsste es nun das Ziel sein, eine komplexe Strategie zu entwickeln, um eine kurative Behandlung durchführen zu können.

Um eine komplette und damit kurative Behandlung der gesamten Drüse durchzuführen, erscheint vor allen Dingen eine Optimierung der Faserapplikation notwendig. Dies beinhaltet eine überlappende Ausbelichtung der gesamten Prostata. Insbesondere bei der transurethralen Applikation der Fasern ist diese Grundvoraussetzung nur sehr diffizil zu realisieren. Aufgrund der Geometrie der prostatistischen Harnröhre ist derzeit eine interstitielle Faserapplikation von mehr als 70°-80° in die Seitenlappen der Prostata nicht realisierbar [Muschter und Hofstetter 1995]. Das bedeutet, dass das sphinkternahe Gewebe am Apex der Prostata nicht komplett behandelt werden kann. Wie bereits in der Diskussion zum HIFU aufgeführt, ist aber gerade in diesem Bereich eine Therapie erforderlich, da in bis zu

25 % der Fälle mit einem Tumorwachstum zu rechnen ist [Kausik et al. 2002]. Aus diesem Grund erscheint der perineale Zugangsweg effizienter. Hier ist, analog der Brachytherapie, eine komplette Behandlung der gesamten Drüse möglich. Mittlerweile stehen zur Durchführung der Brachytherapie Ultraschall-gesteuerte Planungsprogramme zur Verfügung, die in Kombination mit den kommerziell erhältlichen Applikationssystemen (Template) eine sichere Behandlung aller Drüsenabschnitte gewährleisten [Blasko et al. 2002, Langley und Laing 2002].

Analog der Studie von Nathan et al. führten wir vor und nach der PDT bei den 3 transurethral behandelten Patienten eine MRT-Untersuchung durch. Bei allen Patienten in unserer Studie zeigten sich nach PDT ein Ödem der Drüse und eine Signalminderung im Bereich des Prostatakarzinoms. Die gleichen Befunde wurden in der Studie von Nathan et al. erhoben und entsprechen auch Untersuchungen aus der eigenen Klinik, die nach interstitieller Thermotherapie eine – in diesem Falle allerdings thermisch induzierte – Signalminderung im Sinne einer Nekrose nachweisen konnten [Müller-Lisse et al. 1998 und 1999].

Ein Vorteil der 5-Aminolävulinsäure gegenüber mTHPC, das in der Studie von Nathan et al. verwendet wurde, könnte die Selektivität und das geringere Nebenwirkungsspektrum von 5-ALA sein. Die Patienten benötigten nach Applikation der 5-Aminolävulinsäure keinen ausgeprägten Lichtschutz. Im Gegensatz dazu wiesen 5 von 14 Patienten in der Studie von Nathan trotz des Lichtschutzes nach Applikation von mTHPC eine kutane Hautreaktion mit Erythembildung auf. Auch bietet die 5-Aminolävulinsäure gegenüber mTHPC den Vorteil der kürzeren Inkubationszeit (4 vs. 72 h), so dass in Zukunft sogar eine ambulante Durchführung der PDT mit 5-ALA denkbar wäre.

In der eigenen Untersuchung fand sich in den periurethralen Gefäßnervenbündeln keine Akkumulation von PPIX. Dies könnte gegenüber dem unselektiveren mTHPC den Vorteil der Potenzerhaltung bei einer PDT mit 5-ALA-induziertem PPIX bieten. In der Studie von Nathan berichteten 4 von initial 7 sexuell aktiven Männern nach der PDT mit mTHPC über das Auftreten einer erektilen Dysfunktion. Auch hinsichtlich der Kontinenz wiesen 4 (= 28 %) von 14 Patienten in der mTHPC Studie nach der Behandlung eine Stressinkontinenz unterschiedlichen Ausmaßes auf. Bei einem Patienten trat nach einem Monat eine rekto-urethrale Fistel auf, die auf die Durchführung der transrektalen Prostatastanziopsien nach der Therapie zurückgeführt wurde. Dahingegen berichtete kein Patient in unserer Studie nach

Durchführung der PDT mit 5-ALA-induziertem PPIX über einen unwillkürlichen Harnabgang oder Defäkationsprobleme hervorgerufen durch eine Verletzung des urethralen Sphinkters oder des Rektums.

Bei einem Patienten hatten wir vor Durchführung des perinealen und transurethralen PDT-Kollektives in einer Pilotuntersuchung während der RPVE unmittelbar vor der Organentnahme intraoperativ eine PDT der beiden Seitenlappen vorgenommen um mögliche frühe Veränderungen der PDT an den Zellen zu dokumentieren. Hinsichtlich des Zielkriteriums dieser Pilotuntersuchung konnte in den behandelten Prostataabschnitten der Nachweis von Herden mit Zelldissoziationen und geringfügiger Einblutung, sowie Epithelnekrosen geführt werden. Inwiefern diese Veränderungen auf die PDT zurückzuführen sind oder lediglich auf das Einführen der Laserfaser, bleibt ungeklärt. Untersuchungen von Ernst et al. konnten lichtmikroskopisch nach PDT mit Photofrin® am Dickdarm von Wistar-Ratten und Nackmäusen ebenfalls frühe Zellveränderungen nachweisen [Ernst et al. 1992].

In Bezug auf die initial definierten Fragestellungen (siehe II) der vorgelegten Arbeit

1. Reichert sich Protoporphyrin IX nach exogener Applikation von 5-Aminolävulinsäure im humanen Prostatakarzinom an?
2. Hat eine photodynamische Therapie mit 5-Aminolävulinsäure-induziertem Protoporphyrin IX einen Effekt auf das humane Karzinom?

kann somit abschließend festgehalten werden:

- 5-ALA induziertes PPIX reichert sich nach exogener Applikation von 5-Aminolävulinsäure in humanen Prostatakarzinomen hochselektiv an.
- Die ersten klinischen Daten belegen die Möglichkeit der Durchführung einer 5-ALA-Applikation bei Patienten mit einem Prostatakarzinom bei gleichzeitig geringem Nebenwirkungsprofil.
- Die ersten Daten zeigen anhand der Reduktion PSA-Wertes einen Einfluss auf das Karzinom.
- Das weitere Potenzial muss insbesondere unter der Berücksichtigung des Zugangsweges für die Faserapplikation (perineal anstatt transurethral) in

weiteren Phase I/II-Untersuchungen evaluiert werden. Die Durchführung einer entsprechenden Studie zur Evaluierung der Sicherheit und der Effektivität mittels eines perinealen Zugangs ist für das Jahr 2005 vorgesehen.

- Aufgrund der Inkubationszeit und des geringen Nebenwirkungsspektrums der 5-Aminolävulinsäure ist eine ambulante Therapie ohne wesentliche Beeinträchtigung der Lebensqualität der Patienten denkbar.

6. Zusammenfassung

In den westlichen Industrienationen ist das Prostatakarzinom (PCA) derzeit die am häufigsten diagnostizierte Krebserkrankung des Mannes. Neben einer Verdoppelung der Inzidenz wird in den letzten 15 Jahren eine Zunahme der lokal begrenzten Tumorstadien beobachtet, was auf die Anwendung des prostataspezifischen Antigens (PSA) im Rahmen der Früherkennung zurückgeführt wird. Die radikale operative Entfernung der Prostata mit den anhängenden Samenblasen (Prostatovesikulektomie) und die Strahlenbehandlung stellen die kurativen Therapieverfahren der Wahl für Patienten mit lokal begrenzten Tumorstadien dar. Diese Standardtherapieverfahren weisen zwar onkologisch effiziente Daten auf, sind aber mit zum Teil für die Lebensqualität erheblich beeinträchtigenden Nebenwirkungen und Folgeerscheinungen, wie zum Beispiel Blasenentleerungsstörungen und erektiler Dysfunktion vergesellschaftet. Vor diesem Hintergrund wird seit einigen Jahren in der Urologie nach therapeutischen, minimal-invasiven und selektiven Alternativen gesucht.

Eine solche Alternative könnte in dem Einsatz eines athermischen und selektiven Behandlungsverfahrens, wie der Photodynamische Therapie (PDT) liegen. Durch die Interaktion eines im Tumorgewebe selektiv angereicherten Photosensibilisators mit Licht geeigneter Wellenlänge führt die Photodynamische Therapie (PDT) zur selektiven Schädigung des den Photosensibilisator anreichernden Gewebes.

Experimentelle Untersuchungen an Tumormodellen des Hundes und der Copenhagen-Ratte konnten zeigen, dass mittels einer PDT - nach Applikation von 5-Aminolävulinsäure (5-ALA), die in Tumorzellen zur Anreicherung von phototherapeutisch aktivem Protoporphyrin IX (PPIX) führt - eine tumorselektive Nekrose induziert werden kann.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, aufbauend auf diesen experimentellen Untersuchungen, erste Studien am humanen Prostatakarzinom durchzuführen mit den Fragestellungen

1. Reichert sich PPIX nach exogener Applikation von 5-ALA im Humanen Prostatakarzinom an?
2. Hat eine PDT mit 5-ALA-induziertem PPIX einen Effekt auf den PSA-Wert bei Patienten mit einem Prostatakarzinom?

Zur Validierung der ersten Fragestellung, die eine unabdingbare Voraussetzung für die Durchführung weiterer Untersuchungen darstellt, wurde bei 15 Patienten im Rahmen der Durchführung einer radikalen Prostatovesikulektomie die Anreicherung von Protoporphyrin IX- nach systemischer Applikation von 5-ALA in den entnommenen Prostaten untersucht.

Hierbei zeigten alle Karzinome eine vollständige PPIX-Anreicherung, wohingegen in den benignen Drüsenabschnitten als auch im Stroma der Prostata Drüsen keine PPIX-Akkumulation sowohl spektralanalytisch als auch fluoreszenzmikroskopisch nachweisbar war.

Aufbauend auf diesen Erkenntnissen wurde im Rahmen der zweiten Fragestellung in einer Pilotuntersuchung bei Patienten mit einem nachgewiesenen Prostatakarzinom der Effekt einer photodynamischen Therapie bei intraoperativer, transurethraler oder perinealer Applikation von Lichtleiterfasern auf den PSA-Wert, untersucht. Bei allen Patienten konnte gezeigt werden, dass es nach Durchführung einer PDT zu einer signifikanten Abnahme des PSA-Wertes, als Surrogat-Marker, kommt. Dieser Sachverhalt konnte auch histologisch und mittels MRT-Untersuchungen bestätigt werden. Bei keinem der Patienten kam es zum Auftreten von Nebenwirkungen. Im weiteren Verlauf war zwar ein erneuter Anstieg des PSA-Wertes fest zu stellen, dieser wies jedoch bei Wiederholung der Therapie einen erneuten Abfall auf.

Somit kann abschließend konstatiert werden:

- PPIX reichert sich nach oraler Applikation von 5-ALA im humanen Prostatakarzinom selektiv gegenüber dem Stroma und den benignen Drüsenabschnitten an.
- Der Einfluss einer PDT auf Patienten mit einem Prostatakarzinom konnte anhand signifikanter PSA-Wert Veränderungen gezeigt werden.

- Aufgrund des günstigen Nebenwirkungsprofils erscheint eine ambulante Therapie ohne wesentliche Beeinträchtigung der Lebensqualität der Patienten denkbar.
- Die Möglichkeit der Repetition ist gegeben.
- Weitere Untersuchungen müssen dringende Fragstellungen hinsichtlich des Applikationsmodus der Lichtleiterfasern (perineal) klären. Diese Untersuchungen sind für das Jahr 2005 im Klinikum Großhadern vorgesehen.

7. Literaturverzeichnis

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

American cancer society 2004: internet seite: www.cancer.org.

Andriole GL, Kavoussi LR, Torrence RJ, Lepor H, Catalona WJ: Transrectal ultrasonography in the diagnosis and staging of carcinoma of the prostate. *J Urol* 140 (4): 758-60, 1988.

Andriole GL, Smith DS, Rao G, Goodnough L, Catalona WJ: Early complications of contemporary anatomical radical retropubic prostatectomy. *J Urol* 152: 1858-60, 1994.

Bastacky SS, Walsh PC, Epstein JI: Needle biopsy associated tumor tracking of adeno-carcinoma of the prostate. *J Urol*. 145: 1003-1007, 1991.

Benson MC, Whang WC, 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): 815-6, 1992.

Beerlage HP, Thuroff S, Madersbacher S, Zlotta AR, Aus G, de Reijke TM, de la Rosette JJ: Current status of minimally invasive treatment options for localized prostate carcinoma. *Eur Urol*. 37 (1): 2-13, 2000.

Blasko JC, Mate T, Sylvester JE, Grimm PD, Cavanagh W: Brachytherapy for carcinoma of the prostate: techniques, patient selection, and clinical outcomes. *Semin Radiat Oncol* 12(1): 81-94, 2002.

Brancalion L, Moseley H: Effects of photoproducts on the binding properties of protoporphyrin IX to proteins. *Biophys Chem* 96 (1): 77-87, 2002 a.

Brancaleon L, Moseley H: Laser and non-laser light sources for photodynamic therapy. *Laserws Med Sci* 17: 173-186, 2002 b.

Bruce RG, Kim FH, McRoberts W: Rhabdomyolysis and acute renal failure following radical perineal prostatectomy. *Urology* 47 (3): 427-30, 1996.

Bonnett R: Photosensitizers of the Porphyrin and phthalocynine series for photodynamic therapy. *Chem Soc Rev* :19-33, 1995.

Bunting JR: A test of a singlet oxygen mechanism of cationic dye photosensitization of mitochondrial damage. *Photochem Photobiol* 55: 81, 1992

Catalona, WJ and Basler JW: Return of erections and urinary continence following nerve sparing radical retropubic prostatectomy. *J Urol* 150: 905, 1993.

Catalona WJ: Expectant management and the natural history of localized prostate cancer. *J Urol* 152: 1751-1752, 1994.

Carter HB, Pearson JD, Metter EJ: Longitudenal evaluation of Prostate specific Antigen in men with and without Prostate disease. *JAMA* 267 (16): 2215:20, 1992.

Carter HB und Partin: Prostate Cancer, In *Campell's Urology*. Ed.: Walsh PC. 7th edition. WB Saunders Company. Philadelphia; 1998.

Chacko JA, Zafar MB, McCallum SW, Terris MK: Vasectomy and prostate cancer characteristics of patients referred for prostate biopsy. *J Urol* 168: 1408-11, 2002.

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.

Chodak GW, Keane T, Klotz L; Hormone Therapy Study Group: Critical evaluation of hormonal therapy for carcinoma of the prostate. *Urology*. 60 (2): 201-8. Review, 2002.

Cohen JK, Miller RJ, Rooker GM, Shuman BA: Cryosurgical ablation of the prostate: two-year prostate-specific antigen and biopsy results. *Urology* 47(3): 395-401, 1996.

Collins GN, Lloyd SN, Hekir M, McKelvie GB: Multiple transrectal ultrasound-guided prostatic biopsies – True morbidity and patient acceptance. *Br J Urol* 71: 460-463, 1993.

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.

Dalkin BL, Ahmann F, Southwick P, Bottaccini MR: Derivation of normal prostate specific antigen (PSA) level by age. *J.Urol* 149: 413 A (Abstract 803), 1993.

Denis LJ, Murphy GP, Schröder FH: Report on the consensus workshop on screening and global strategy for prostate cancer. *Cancer* 75: 1187-1207, 1995.

Donnelly BJ, Saliken JC, Ernst DS, Ali-Ridha N, Brasher PM, Robinson JW, Rewcastle JC: Prospective trial of cryosurgical ablation of the prostate: five-year results. *Urology* 60 (4): 645, 2002.

Dougherty TJ, Marcus SL: Photodynamic therapy. *Eur J Cancer* 28A (10): 1734, 1992.

Dougherty TJ: An update on photodynamic therapy applications. *J Clin Laser Med Surg* 20(1): 3-7, 2002.

Eastham JA, Kattan MW, Rogers E, Goad JR, Ohori M, Boone TB, Scardino PT: Risk factors for urinary incontinence after radical prostatectomy. *J Urol* 156 (5): 1707-13, 1996.

Ellis WJ, Chetner MP, Preston SD, Brawer MK: Diagnosis of prostatic carcinoma: the yield of serum prostate specific antigen, digital rectal examination and transrectal ultrasonography. *J Urol* 152: 1520-5, 1994.

Etzioni R, Penson DF, Legler JM, di Tommaso D, Boer R, Gann PH, Feuer EJ: Overdiagnosis due to prostate-specific antigen screening: lessons from U.S. prostate cancer incidence trends. *J Natl Cancer Inst* 94(13): 981-90, 2002.

Ernst H, Lebek R, Gossner L, Wittke H, Sroka R, Unsöld E, Hahn EG, Ell C: Morphologische Veränderungen des humanen Kolonkarzinoms nach photodynamischer Therapie - Eine Studie im Nacktmausmodell. *Lasermedizin* 7: 238-243, 1992.

Faul P: Die klinische Bedeutung der transrektalen Feinnadelbiopsie und zytologischen Diagnose des Prostatakarzinoms. in: Aktuelle Therapie des Prostatakarzinoms. Hrsg: Ackermann R, Altwein JE, Faul P. Springer, Berlin Heidelberg New York Tokyo, 1991.

Gann PH, Hennekens CH, Stampfer MJ: A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostatic cancer. *JAMA*. 273 (4): 289-94, 1995.

Gleason DF: Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother* 50: 125-130, 1966.

Grimm PD, Blasko JC, Sylvester JE, Meier RM, Cavanagh W: 10-year biochemical (prostate-specific antigen) control of prostate cancer with (125)I brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 51 (1): 31-40, 2001.

Guillonneau B, Cathelineau X, Doublet JD, Vallancien G: Laparoscopic radical prostatectomy: The lessons learned. *J Endourology* 15: 441-445, 2001.

Guillonneau B, Vallancien G: Laparoscopic radical prostatectomy: The Montsouris Experience. *J Urol* 163: 418-422, 2000.

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

Hammerer P, Hübner D, Gonnermann D, Huland H: Perioperative und postoperative Komplikationen der pelvinen Lymphadenektomie und radikalen Prostatektomie bei 320 konsekutiven Patienten. *Urologe A* 34: 334-342, 1995.

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.

Helpap B, Bocking A, Dhom G, Faul P, Kastendieck H, Leistenschneider W, Müller 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. *Pathologie* 6 (1): 3-7, 1985.

Henry JM, Isaacs JT: Synergistic enhancement of the efficacy of the bioreductively activated alkylating agent RSU-1164 in the treatment of prostatic cancer by photodynamic therapy. *J Urol* 142 (1): 165-70, 1989

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: Radical prostatectomy: options and issues. *Eur Urol* 39 suppl: 3-9, 2001.

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

Igel TC, Barrett DM, Segure JW: Perioperative and postoperative complications from bilateral pelvic lymphadenectomy and radical retropubic prostatectomy. *J Urol* 137: 1189-1191, 1987.

Jewett HJ. The present status of radical prostatectomy for stages A and B prostatic cancer. *Urol Clin North Am* 2: 105-124; 1975.

Jichlinski P, Leisinger HJ: Photodynamic Therapy in superficial bladder cancer: past, present and future. *Urol Res* 29 (6): 396, 2001.

Kausik SJ, Blute ML, Sebo TJ, Leibovich BC, Bergstralh EJ, Slezak J, Zincke H: Prognostic significance of positive surgical margins in patients with extraprostatic carcinoma after radical prostatectomy. *Cancer* 95 (6): 1215-9, 2002.

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.

Kennth and Pienta: Aetiology of Prostate cancer. In Campell's Urology. Ed.: Walsh PC. 7th edition. WB Saunders Company. Philadelphia; 1998.

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.

Landis SH, Murray T, Bolden S: Cancer Statistics, 1998. CA Cancer J Clin 48: 6-29, 1998.

Langley SE, Laing R: Prostate brachytherapy has come of age: a review of the technique and results. BJU Int 89(3): 241-9, 2002.

Luboldt H, Rübber H: PSA-based early detection of prostate cancer. Urologe A 39 (1) :22-6, 2000.

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

Lilja H, Christenson A, Dahlen U et al: Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1 antitrypsin. Clin.Chem. 37 (9): 1618-25, 1991.

Lu-Yao GL, McLerran D, Wasson J: An assessment of radical prostatectomy: time trends, geographic variation, and outcomes. JAMA 269 (20): 2633-2636, 1993.

Macoska JA, Trybus TM, Sakr WA, Wolf MC, Benson PD, Powell IJ, Pontes JE: Fluorescence in situ hybridization analysis of 8p allelic loss and chromosome 8 instability in human prostate cancer. Cancer Res. 54 (14): 3824-30, 1994.

McPhee MS, Thorndyke CW, Thomas G, Tulip J, Chapman D, Lakey WH: Interstitial applications of laser irradiation in hematoporphyrin derivative-photosensitized Dunning R3327 prostate cancers. Lasers Surg Med 4 (1): 93-8, 1984

Meikle AW, Smith JA, West DW: Familial factors affecting prostatic cancer risk and plasma sex-steroid levels. *Prostate* 6 (2): 121-8, 1985.

Middleton RG, Thompson JM, Austenfeld MS: Prostate cancer clinical guidelines panel summary report on the management of clinically localized prostate cancer. *J Urol* 154: 2144-2148, 1995.

Miller K, Weißbach L: Leitlinien zur Therapie von Prostatakarzinomen. *Urologe A* 38: 630-39, 1999.

Moan J, Berg K: The photodegradation of porphyrins in cells can be used to estimate the lifetime of singlet oxygen. *Photochem Photobiol* 53 (4): 549-53, 1991.

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

Montie JE, Pienta KJ: Review of the role of androgenic hormones in the epidemiology of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Urology*. 43 (6): 892-9. Review, 1994.

Mostofi FK, Sesterhenn IA, Davis CJ Jr: Problems in pathologic diagnosis of prostatic carcinoma. *Semin Oncol* 3: 161-169, 1976.

Moul JW, Wu H, Sun L, McLeod DG, Amling C, Lance R, Kusuda L, Donahue T, Foley J, Chung A, Sexton W, Soderdahl D, Rich NM: Epidemiology of radical prostatectomy for localized prostate cancer in the era of prostate-specific antigen: an overview of the Department of Defense Center for Prostate Disease Research national database. *Surgery* 132(2): 213-9, 2002.

Muschter R, Hofstetter A: Technique and results of interstitial laser coagulation. *World J Urol* 13 (2): 109-14, 1995.

Mueller-Lisse UG, Heuck AF, Thoma M, Muschter R, Schneede P, Weninger E, Faber S, Hofstetter A, Reiser MF: Predictability of the size of laser-induced lesions in T1-Weighted MR images obtained during interstitial laser-induced thermotherapy of benign prostatic hyperplasia. *J Magn Reson Imaging* 8 (1): 31-9, 1998.

Mueller-Lisse UG, Thoma M, Faber S, Heuck AF, Muschter R, Schneede P, Weninger E, Hofstetter AG, Reiser MF: Coagulative interstitial laser-induced thermotherapy of benign prostatic hyperplasia: online imaging with a T2-weighted fast spin-echo MR sequence--experience in six patients. *Radiology* 210(2): 373-9 1999.

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.

Noldus J, Michl U, Graefen M, Haese A, Hammerer P, Huland H: Patient-reported Sexual Function After Nerve-sparing Radical Retropubic Prostatectomy. *Eur Urol* 42 (2): 118, 2002.

Oesterling JE, Jacobsen SJ, Chutte CG: serum prostate specific antigen in a community-based population of healthy men: establishment of age-specific reference ranges. *JAMA* 270 (7): 860-4, 1993.

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, 1997.

Pienta KJ, Demers R, Hoff M, Kau TY, Montie JE, Severson RK: Effect of age and race on the survival of men with prostate cancer in the Metropolitan Detroit tricounty area, 1973 to 1987. *Urology* 45 (1): 93-101, 1995.

Profio AE, Doiron DR: Transport of light in tissue in photodynamic therapy. *Photochem Photobiol* 46: 591-599, 1987.

Rassweiler J, Sentker L, Seemann O, Hatzinger M, Rumpelt HJ: Laparoscopic radical prostatectomy with the Heilbronn technique: an analysis of first 180 cases. *J Urol* 166: 2101-08, 2001.

Reddi E, Jori G: Steady-state and time-resolved spectroscopic studies of photodynamic sensitizers: porphyrins and phthalocyanines. *Rev Chem Intrem* 10: 241-268, 1988.

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.

Ryu JK, Winter K, Michalski JM, Purdy JA, Markoe AM, Earle JD, Perez CA, Roach M, Sandler HM, Pollack A, Cox JD: Interim report of toxicity from 3D conformal radiation therapy (3D-CRT) for prostate cancer on 3DOG/RTOG 9406, level III (79.2 gy). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 54 (4): 1036-46, 2002.

Schmeller N, Busch M, Weiss W, Gerl A, Schalhorn A: Prostatakarzinom. In *Urogenitaltumoren*. Hrsg.: TZM München. 2. Auflage, 1997.

Shipley WU, Thames HD, Sandler HM, Hanks GE, Zietman AL, Perez CA, Kuban DA, Hancock SL, Smith CD: Radiation therapy for clinically localized prostate cancer: a multi-institutional pooled analysis. *JAMA* 281(17): 1598-604, 1999.

Sommer F, Derakhshani P, Zumbe J, Engelmann U: Value of cryotherapy in localized prostatic carcinoma. *Urologe A* 40 (3): 185-90, 2001.

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. Laser Appl.* 18: 87-90, 2003.

Stepp H: Entwicklung und Optimierung eines computergestützten Tumorfrühdiagnoseverfahrens durch bildgebende Detektion tumorselektiver Fluoreszenzmarker. Dissertation an der Med. Fakultät der LMU München, 1993.

Strauss W.: Klinische Fluoreszenzdiagnostik und Photodynamische Therapie: Photosensibilisatoren. Blackwell verlag 29-38, 2003.

Stummer W, Stocker S, Novotny A, Heimann A, Sauer O, Kempfski 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.

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.

Tappeiner Hv: Über die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien nach Versuchen von O. Raab (Vortrag gehalten bei der Versammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte zu München in der Abteilung für innere Medizin und Pharmakologie, 19. September 1899). Münchener Medizinische Wochenschrift 47: 5, 1900.

Taplin ME, Bubley GJ, Shuster TD, Frantz ME, Spooner AE, Ogata GK, Keer HN, Balk SP: Mutation of the androgen-receptor gene in metastatic androgen-independent prostate cancer. N Engl J Med. 332 (21):1393-8, 1995.

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.

Türk I, Deger S, Winkelmann B, Schonberger B, Loening SA: Laparoscopic radical prostatectomy. Technical aspects and experience with 125 cases. Eur Urol 40 (1): 46-52, 2001.

UICC: TNM Klassifikation maligner Tumoren. Hrsg. Wittekind C und Wagner G. 5. Auflage, Springer-Verlag Berlin-Heidelberg New York 162-164, 2002.

Van Gemert M, Jacques S, Sternborg H, Star W: Skin optics. IEEE Transactions on Biomedical Engineering 36: 1146-54, 1989.

Walsh PC: Anatomic Radical Retropubic Prostatectomy. In Campell's Urology. Ed.: Walsh PC. 7th edition. WB Saunders Company. Philadelphia; 1998.

Waidelich R, Beyer W, Knüchel R, Stepp H, Baumgartner R, Schroder J, Hofstetter A, Kriegmair M.: Whole bladder photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid using a white light source. Urol 61 (2): 332-337, 2003.

Whittemore AS, Lele C, Friedman GD, Stamey T, Vogelman JH, Orentreich N: PSA as predictor of prostate cancer in black men and white men. J Natl Cancer Inst 87: 354-360, 1995.

Windahl T, Andersson SO, Lofgren L: Photodynamic therapy of localised prostatic cancer. Lancet 336 (8723):1139; 1990.

Wingo PA, Ries LA, Rosenberg HM, Miller DS, Edwards BK: Cancer incidence and mortality, 1973-1995: a report card for the U.S. Cancer 82 (6): 1197-207, 1998.

Wu J, Feld MS, Rava RP: Analytical model for extracting intrinsic fluorescence in turbid media. Appl Opt 32: 3585-95, 1993.

Wynder EL, Laakso K, Sotarauta M, Rose DP: Metabolic epidemiology of prostatic cancer. Prostate. 5(1):47-53. Review, 1984.

Zaak D, Sroka R, Stocker S, Bise K, Lein M, Hoppner M, Frimberger D, Schneede P, Reich O, Kriegmair M, Knuchel R, Baumgartner R, Hofstetter A: Photodynamic therapy of prostate cancer by means of 5-aminolevulinic acid-induced

protoporphyrin IX - in vivo experiments on the dunning rat tumor model. *Urol Int.* 72 (3):196-202, 2004.

Zagars GK, von Eschenbach AC, Johnson DE, Oswald MJ: The role of radiation therapy in stages A2 and B adenocarcinoma of the prostate. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 14 (4): 701-9, 1988.

Zincke H, Oesterling JE, Blute ML, Bergstralh EJ, Myers RP, Barrett DM: Long-term (15 years) results after radical prostatectomy for clinically localized (stage T2c or lower) prostate cancer. *J Urol* 152: 1850-7, 1994.

8. Danksagung

Nach Abschluss dieser Arbeit gilt mein Dank:

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. D. Zaak aus der Urologischen Klinik und Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München danke ich besonders für die Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Betreuung, die ständige und geduldige Anleitung und die großzügige Hilfe bei der Sammlung und Auswertung der Daten und der Abfassung der Dissertationsschrift.

Herrn Prof. Dr. med. C. G. Stief für die großzügige Unterstützung, die kompetente Beratung und die anregenden Diskussionen während der Fertigstellung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. h. c. mult. A. Hofstetter für die Ermöglichung meines Aufenthalts in Deutschland, die Überlassung des Themas und die Möglichkeit Experimente im Laser-Forschungslabor der Urologischen Klinik der Universität München durchführen zu können.

Herrn Dr. rer. hum. biol. R. Sroka für die ständige Hilfsbereitschaft und kompetente Hilfestellung bei allen Fragen, sowie für die zahlreichen Anregungen und die lehrreichen Diskussionen

Prof. Dr. R. Knüchel, aus dem Pathologischen Institut der Universität Regensburg besonders für die Unterstützung bei der Aufarbeitung der histologischen Befunde und Anpassung der fluorszenzmikroskopischen Untersuchungen.

Nicht zuletzt gilt mein Dank auch den Kolleginnen und Kollegen, die mir Ratschläge und Unterstützung zu Teil werden ließen.

Zuletzt gilt mein besonderer Dank meiner Frau Dalia für Ihre Liebe, ihr Vertrauen und geistige Unterstützung.

9. Lebenslauf

Zur Person:

Name: Wael Yaseen Zaky Khoder
Geburtsdatum: 17.08.1971
Geburtsort: El-Menoufiya, Ägypten
Familienstand: verheiratet, 1 Kind (Nader, 3 Jahre)
Staatsangehörigkeit: Ägypten

Schulbildung:

1977-1981: Vorschule
1982-1984: Grundschule
1985-1987: Gymnasium
1988: Abitur
1989-1991: Vorklinisches Studium, Medizinische Fakultät, Tanta Universität.
1992-1994: Klinisches Studium, Medizinische Fakultät, Menoufiya Universität

Qualifikation:

- 1. September, 1994:** M.B.B.Ch (Medizinisches Studium Abschlussprüfung) Medizinische Fakultät, Menoufiya Universität (Note: sehr gut).
- 2. April, 2000:** MSc Urologie (Magister). Medizinische Fakultät, Menoufiya Universität.
- 3. Mai 2001:** Erster Teil PhD- Prüfung, Menoufiya Universität.
- 4. Juli, 2004:** Erwerb die Facharzt Bezeichnung „Urologie“, Bayerische Landesärztekammer, München, Deutschland.

5. **November, 2004:** Erwerb des ersten Teiles European Board of Urology (EBU).
6. **November, 2004 :** Erwerb der Sachkunde für Laser – Anwendungen in der Urologie und für Laserschutzbeauftragte.

Berufliche Tätigkeit:

-01.03.1995 bis 28.2.1996: House-Officer (AIP) am Menoufiya Universitäts-Krankenhaus. Sheben El Koom, Menoufiya.

-12.03.1996 bis 10.03.1997: Chirurgischer Assistent im Gesundheitsministerium.

-11.03.1997 bis 10.03.2000: Assistent der Urologie, Urologische Klinik des Menoufiya Universitätskrankenhauses.

- 24.05.2000 bis 18.04.2001: Facharzt für Urologie, Urologische Abteilung der Medizinischen Fakultät, Menoufiya Universität.

- Ab 19.04.2001: Wissenschaftlicher Angestellter und akademischer Lehrer für Urologie, Urologische Abteilung der Medizinischen Fakultät, Menoufiya Universität.

-15.07.2002 bis 30.07.2004: Assistent (Gastarzt) der Urologischen Klinik und Poliklinik Großhadern, LMU, München, Deutschland.

- Ab 01.08.2004: Wissenschaftlicher Angestellter an der Urologischen Klinik und Poliklinik Großhadern, LMU, München, Deutschland.