

CharitéCentrum 08 für Chirurgische Medizin
Klinik für Urologie, Campus Mitte
Direktor: Prof. Dr. S.A. Loening

Habilitationsschrift

Thermotherapie des Prostatakarzinoms unter Verwendung magnetischer Nanopartikel

zur Erlangung der Venia legendi
für das Fach Urologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Manfred Johannsen
geboren am 23.03.1965 in Bielefeld

Eingereicht: Januar 2007

Dekan: Prof. Dr. M. Paul

1. Gutachter: Prof. Dr. R. Sauer, Erlangen
2. Gutachter: Prof. Dr. R. Issels, München

Inhaltsverzeichnis

1.	Vorbemerkungen	3
2.	Einleitung und Zielstellung	4
2.1.	Standardtherapie des Prostatakarzinoms	4
2.2.	Hyperthermie und Thermoablation	6
2.3.	Konventionelle und magnetisch induzierte Hyperthermie des Prostatakarzinoms	7
2.4.	Zielstellung	10
	<i>Jordan A et al. Presentation of a new Magnetic Field Therapy System for the Treatment of Human Solid Tumors with Magnetic Fluid Hyperthermia. J Magn Magn Mater 2001; 225:118-126.</i>	12
3.	Machbarkeit der Nanopartikel-Thermotherapie im orthotopen Tiermodell des Prostatakarzinoms	12
	<i>Johannsen M, et al. Evaluation of magnetic fluid hyperthermia (MFH) in a standard rat model of prostate cancer. J Endourol 2004;18(5):495-500.</i>	
4.	Präklinische Ergebnisse der Nanopartikel-Thermotherapie des Prostatakarzinoms	13
	<i>Johannsen M et al. Magnetic fluid hyperthermia (MFH) reduces prostate cancer growth in the orthotopic Dunning R3327 rat model. Prostate 2005;64(3):283-92.</i>	
5.	Nanopartikel-Thermotherapie in Kombination mit externer Bestrahlung im orthotopen Tiermodell	14
	<i>Johannsen M et al. Thermotherapy using magnetic nanoparticles combined with external radiation in an orthotopic rat model of prostate cancer. Prostate 2006;66(1):97-104.</i>	
6.	Machbarkeit der Nanopartikel-Thermotherapie beim humanen Prostatakarzinom: Therapieplanung und Thermometrie	15
	<i>Johannsen M et al. Clinical hyperthermia of prostate cancer using magnetic nanoparticles: Presentation of a new interstitial technique. Int J Hyperthermia 2005;21(7):637-47.</i>	
7.	Phase-I-Studie zur Nanopartikel-Thermotherapie des Prostatakarzinoms: Bildgebende Darstellung und Analyse der dreidimensionalen Temperaturverteilung	16
	<i>Johannsen M et al. Thermotherapy of Prostate Cancer Using Magnetic Nanoparticles: Feasibility, Imaging and Three-Dimensional Temperature Distribution. Eur Urol,2006 Nov 17; [Epub ahead of print].</i>	
8.	Phase-I-Studie zur Nanopartikel-Thermotherapie des Prostatakarzinoms: Toxizität, Effektivität und Analyse der Lebensqualität	17
	<i>Johannsen M et al. Morbidity and quality of life during thermotherapy using magnetic nanoparticles in locally recurrent prostate cancer: results of a prospective phase I trial. Int J Hyperthermia, im Druck.</i>	
9.	Diskussion	18
10.	Zusammenfassung	23
11.	Fremdliteratur	24
12.	Danksagung und Eidesstattliche Erklärung	29

1. Vorbemerkungen

Die in dieser kumulativen Habilitationsschrift dargestellten Ergebnisse wurden im Rahmen von Tierversuchen sowie klinischen Untersuchungen gewonnen, die ich in Zusammenarbeit mit Wissenschaftlern, technischen Mitarbeitern und ärztlichen Kollegen an verschiedenen Einrichtungen durchgeführt habe. Den Rahmen für die interdisziplinäre Zusammenarbeit bildete der Sonderforschungsbereich 273 "Hyperthermie: Methodik und Klinik" der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Die präklinischen Versuche wurden am Centrum für Biomedizinische Nanotechnologie (CBN) Berlin in Zusammenarbeit mit der Firma MagForce Nanotechnologies AG und der Forschungsabteilung der Urologischen Klinik der Charité, Campus Mitte, durchgeführt. Die klinischen Untersuchungen erfolgten in Zusammenarbeit zwischen der Urologischen Klinik der Charité, Campus Mitte, und dem Bereich Radioonkologie/Hyperthermie der Abteilung für Strahlenheilkunde am Campus Virchow-Klinikum der Charité. Alle Wissenschaftler und Kollegen, die maßgeblich an den dargestellten Projekten beteiligt waren, sind als Koautoren in den Veröffentlichungen genannt (siehe Kapitel 2.-8.).

Den thematischen Mittelpunkt dieser Arbeit bildet die Hyperthermie. Ich beschäftige mich seit 2000 mit der präklinischen Evaluation und seit 2004 mit der klinischen Anwendung der Thermotherapie mittels magnetischer Nanopartikel beim Prostatakarzinom. Vor dem Hintergrund bereits vorhandener Erfahrungen mit der Magnetfeldhyperthermie beim Prostatakarzinom und ihrer Evaluation in geeigneten Tiermodellen an der Urologischen Klinik der Charité Campus Mitte, sowie der Entwicklung magnetischer Nanopartikel für die Thermotherapie durch Dr. A. Jordan vom CBN, wurde eine Zusammenarbeit auf diesem Gebiet Ende 1999 beschlossen.

Im Rahmen dieser Zusammenarbeit konnte die Thermotherapie mittels magnetischer Nanopartikel weltweit erstmalig bei dieser Tumorentität erprobt werden. Die operativen Techniken und der Umgang mit dem verwendeten Tiermodell, dem orthotopen Dunning-Tumor der Ratte, wurden von mir im Rahmen eines Seminars und Praktikums („Versuchstiere, Tierversuche und Alternativmethoden“, Humboldt Universität zu Berlin, Freie Universität Berlin und zebet/BgVV, zertifiziert von der Dt. Ges. f. Versuchstierkunde, Society of Laboratory Animal Science, erfolgreiche Teilnahme am 27.07.2000 attestiert) sowie der Mitwirkung an früheren Tierexperimenten an der Forschungsabteilung der Urologischen Klinik der Charité, Campus Mitte, erlernt.

Die anschliessend durchgeführte Phase-I-Studie stellt die weltweit erste klinische Anwendung dieser Thermotherapie-Methode bei Patienten mit einem Prostatakarzinom dar. Für die magnetische Flüssigkeit und den ersten Magnetfeldapplikator für Nanopartikel-Thermotherapien beim Menschen (MagForce Nanotechnologies AG, Berlin) lagen Zertifizierung und Zulassung für medizinische Zwecke vor. Ein positives Ethikvotum für die Phase-I-Studie sowie die Genehmigungen durch das Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin (Lagetsi) und das Deutsche Institut für medizinische Dokumentation und Information (DIMDI) lagen ebenfalls vor.

Die in dieser Habilitationsschrift dargestellten Forschungsvorhaben wurden durch den Europäischen Fonds für regionale Entwicklung (Projekt "NanoMed",

Nanotechnology in Medicine, No. 2000-22006 2UE/2) und das Bundesministerium für Bildung und Forschung (Nanobiotechnologie-Programm, Projekt "TAN", FKZ 13N8679) unterstützt.

Die Ergebnisse dieser Studien wurden auf internationalen Kongressen vorgestellt und in internationalen Zeitschriften mit peer-review-System veröffentlicht. Ein Beitrag zu ersten klinischen Studienergebnissen wurde beim 21. Kongreß der Europäischen Gesellschaft für Urologie (EAU) in Paris 2006 mit dem 3. Preis (Bereich Onkologie) ausgezeichnet.

Sechs Erstautor-Originalpublikationen zur Thermotherapie mittels magnetischer Nanopartikel beim Prostatakarzinom von 2004-2007 bilden den Hauptbestandteil der vorliegenden Habilitationsschrift. Eine frühere Koautorpublikation zu dieser Thematik soll als Einführung dienen und wird der Einleitung angefügt. Die genannten Publikationen sind vollständig eingefügt (Kapitel 2.-8.). Aufgrund der international bedeutenden Stellung der Arbeitsgruppe auf diesem Gebiet wurde ich zusammen mit Dr. Jordan gebeten, einen Buchbeitrag zum Thema „Nanoparticles for Thermotherapy“ zu verfassen, der vollständig im Begleitband aufgeführt wird. Weitere Erstautor- und Koautorpublikationen zu grundlagenwissenschaftlichen und urologischen Themenbereichen sind als Literaturzitate und teilweise als Ausdrücke im Begleitband enthalten.

Nach der Einleitung werden die wesentlichen Ergebnisse in den folgenden Kapiteln kurz beschrieben. Für die detaillierte Darstellung der Methoden und Ergebnisse wird auf die entsprechenden Publikationen verwiesen. In der Diskussion erfolgt die kritische Bewertung der wissenschaftlichen Ergebnisse und möglicher zukünftiger Indikationen für diese neue minimal-invasive Behandlungsmethode. Abkürzungen werden jeweils bei erstmaligem Erscheinen im Text erläutert.

2. Einleitung und Zielstellung

2.1. Standardtherapie des Prostatakarzinoms

Das Prostatakarzinom (PCa) weist seit einigen Jahren die höchste Rate an Neuerkrankungen pro Jahr in der westlichen Welt auf. In den USA wurden für das Jahr 2005 232090 Neuerkrankungen, dies entspricht 33% aller neuentdeckten Tumore, bei einer Mortalitätsrate von 30350 Personen, d.h. 10% aller tumorbedingten Todesfälle, vorausgesagt [1]. Auch in Deutschland steigen Inzidenz und Prävalenz des PCa weiterhin an.

Die radikale Prostatektomie gilt als Goldstandard bei der kurativen Therapie des lokalisierten Prostatakarzinoms im Stadium T1-T2 N0 M0 und kann auch im Stadium T3 N0 M0 noch mit kurativem Ergebnis angewendet werden. Mit der Entwicklung moderner Strahlentherapietechniken (3D-konformale perkutane Radiatio, Multi-Leaf-Kollimatoren, Hochvoltbestrahlungen) steht heutzutage eine weitere kurative Option als Alternative zur Operation zur Verfügung. Sowohl die radikale Prostatektomie als auch die definitive perkutane Strahlentherapie zeigen in frühen Erkrankungsstadien (T1-T2) und abhängig vom Grading der Erkrankung lokale 5-Jahres-Tumorkontrollraten von 74%-100%. Bei T3-Tumoren scheint die definitive Strahlentherapie gegenüber der radikalen Operation höhere 5-Jahres-Tumorkontrollraten aufzuweisen, wobei hier der zusätzliche Einsatz der Androgendeprivation als Standard anzusehen ist [2, 3].

Während es für die verschiedenen operativen Techniken der Prostatektomie (retropubisch, perineal, laparoskopisch, endoskopisch präperitoneal, robotergestützt) kaum Unterschiede bezüglich der onkologischen Indikation gibt, weisen die verschiedenen strahlentherapeutischen Behandlungsmodalitäten des PCa Unterschiede auf. Neben der perkutanen Bestrahlung steht die interstitielle Brachytherapie mittels Applikation als High-Dose-Rate (HDR) oder Low-Dose-Rate (LDR) für die Therapie unterschiedlicher Stadien zur Verfügung. Für Patienten mit T1-2 Tumoren und günstigem Grading bietet die permanente LDR-Brachytherapie mit Palladium- oder Jodimplantaten gute Resultate [4]. Bei lokal fortgeschrittenen Tumoren hingegen sind die Ergebnisse deutlich ungünstiger oder die Nebenwirkungsrate nimmt durch die dann meist eingesetzte Kombination mit externer Strahlentherapie oder Hormontherapie zu, so daß die Indikation kritisch beurteilt wird [5]. Für die Therapie des lokal begrenzten bis fortgeschrittenen PCa stellt die HDR-Brachytherapie mittels Iridium-192 als Afterloading-Verfahren in Verbindung mit externer Aufsättigung (Telebrachytherapie) eine effektive Behandlungsoption dar [6].

Die Vergleichbarkeit der mittels Strahlentherapie erzielten Behandlungserfolge mit denen nach radikaler Operation wird durch das fehlende pathologische Staging bei der Strahlentherapie sowie dem bekanntem klinischen Understaging in 43-75% (pT3 statt cT2) erschwert. Daher sind statt des alleinigen klinischen Stagings auch mehrere Parameter zur Einteilung der Patienten in Risikokategorien herangezogen worden: In einem großen Patientengut traten 6 Jahre nach externer Strahlentherapie bei einem PSA-Wert über 10ng/ml und gut bis mäßig differenziertem Tumor (Gleason < 7) in 40% PSA-Rezidive und in 26% Lokalrezidive auf. Bei schlecht differenzierten Tumoren (Gleason > 7) waren bereits in 88% PSA-Rezidive und in 43% Lokalrezidive nachzuweisen [7]. Vorteil der radikalen Operation gegenüber der Strahlentherapie ist das genaue pathologische Staging sowie die einfachere Interpretation des PSA-Wertes im Rahmen der Nachsorge, da letzterer nach kurativer Strahlentherapie wesentlich langsamer und meist nicht unter die Nachweisgrenze abfällt.

Die perioperative Morbidität nach radikaler Prostatektomie und postoperative Folgen wie Inkontinenz und Impotenz sind seit den Untersuchungen zur sphinkter- und nerverhaltenden radikalen Prostatektomie durch Walsh und Donkert deutlich gesenkt worden [8]. Dennoch ist die Morbidität, vor allem im ersten Jahr nach radikaler Operation, nicht unerheblich [9]. Auch ist im Stadium T3 innerhalb der ersten 5 bis 15 Jahre nach Prostatektomie in 17-70% der Fälle mit einem lokalen Progreß der Erkrankung zu rechnen [10].

Dies begründet die Suche nach alternativen Therapieverfahren für das lokal begrenzte und auch das lokal fortgeschrittene PCa, die vor allem bei Patienten mit Begleiterkrankungen die radikale Operation ersetzen können. Auf der anderen Seite werden heutzutage durch die weit verbreitete PSA-Testung mehr und auch jüngere Patienten mit der Diagnose eines lokal begrenzten PCa konfrontiert, bei denen neben einer kurativen Therapie auch der Erhalt der Lebensqualität eine grosse Rolle spielt. Um diesem Bedürfnis Rechnung zu tragen, erlangen weniger invasive, alternative Therapieverfahren bzw. multimodale Behandlungsstrategien immer grössere Bedeutung. Die Strahlentherapie erfüllt im Wesentlichen die Forderung nach geringer bzw. fehlender Invasivität bei hoher Effektivität in der Therapie des PCa. In den letzten Jahrzehnten hat eine deutliche Dosisescalation stattgefunden, was aufgrund der hohen

Lebenserwartung jüngerer Patienten mit einem PCa sinnvoll erscheint, jedoch auch mit vermehrten Nebenwirkungen einhergeht [5, 11].

Eine Möglichkeit, die Effektivität einer Strahlentherapie ohne Zunahme der strahlenbedingten Nebenwirkungen zu verbessern, ist die Kombination mit der Hyperthermie. Trotz der überzeugenden biologischen Rationale und intensiver klinischer Erprobung verschiedener Applikatortechnologien hat die Kombination von Strahlentherapie und Hyperthermie bisher keinen Einzug in die Standardtherapie des PCa erhalten, was überwiegend auf methodische Probleme zurückzuführen ist (siehe Kapitel 2.3).

2.2. Hyperthermie und Thermoablation

Während die biologische Wirksamkeit von Wärme in der Behandlung von Malignomen seit Jahrzehnten bekannt ist, wurde der zytotoxische Effekt der Hyperthermie erst 1979 von Raaphorst et al. wissenschaftlich nachgewiesen. Das Ausmass des zytotoxischen Effektes hängt von der applizierten thermischen Dosis ab, die wiederum von der Temperatur im Zielvolumen und der Expositionszeit abhängig ist [12]. Temperaturen von über 42°C haben bei längerer Exposition einen direkten zytotoxischen Effekt, der oberhalb einer kritischen Temperatur von 43°C exponentiell zunimmt [13]. So kann bei einer weiteren Erhöhung der Temperatur um 1°C die Expositionsdauer halbiert werden, um den gleichen zytotoxischen Effekt zu erzielen. Bei Temperaturen von über 46°C spricht man von Thermoablation, wobei ab etwa 50°C kaum noch organisierter Zelltod, sondern direkte koagulative Nekrose stattfindet [13]. Die meisten normalen Gewebe tolerieren Temperaturen von bis zu 44°C über eine Stunde schadlos, wohingegen Tumorzellen bereits absterben. Gründe dafür sind eine weniger effektive Durchblutung im Tumorgewebe, bedingt durch ungeordnete Bildung pathologischer, fragiler Gefäße sowie damit einhergehende Gewebshypoxie und Azidose [13].

Als Wirkungsmechanismen der Hyperthermie werden Schäden an der Zellmembran und am Zytoskelett angenommen, die vor allem während der Mitosephase, aber auch während der S-Phase des Zellzyklus auftreten [13]. Bei Temperaturen von 40-42°C ist bei Anwendung vor oder direkt nach einer Strahlentherapie ein sensibilisierender Effekt zu beobachten, der auf einer Beeinträchtigung zellulärer Reparaturvorgänge, vor allem in strahlenresistenten Zellzyklusphasen (G2-/S-Phase), beruht [14]. Eine solche „moderate“ Hyperthermie führt über eine erhöhte Perfusion zur Aufhebung der Gewebssazidose und damit zur Verbesserung der Strahlenwirkung [15]. Dieser synergistische Effekt von Hyperthermie und Strahlentherapie wird bereits in multimodalen Behandlungsansätzen klinisch genutzt [16, 17].

Ein weiterer klinisch bedeutsamer Aspekt der Hyperthermie ist die Thermotoleranz. Diese beschreibt eine vorübergehende Resistenz von Zellen gegen Hitzeeinwirkung nach erfolgter Hyperthermie, deren Entstehung mit der Expression von Hitzeschockproteinen (HSP) erklärt wird. Die HSP verhindern durch Bindung an Zellproteine und Einleitung von Reparaturmechanismen den Zelltod. Die Induktion der Thermotoleranz konnte bei experimentellen Untersuchungen frühestens 24 Stunden nach einer Hyperthermiebehandlung beobachtet werden, erreichte den Höhepunkt nach 48 Stunden und kehrte nach 120 Stunden in die Ausgangssituation zurück [18].

Experimentelle Untersuchungen legen nahe, daß mit simultaner Anwendung von Hyperthermie und Radiatio der größte synergistische Effekt zu erzielen ist [14]. Da dies in der Praxis meist schwer zu realisieren ist, wird in den meisten Publikationen die Hyperthermie entweder kurz vor oder nach einer Bestrahlung appliziert. Welche zeitliche Sequenz hinsichtlich der synergistischen Wirkung der Thermoradiotherapie besser geeignet ist, erscheint derzeit noch unklar [14].

Der Wert einer Hyperthermie im Rahmen einer multimodalen Behandlungsstrategie zusammen mit Strahlen- und ggf. auch Chemotherapie ist bei einigen Tumorentitäten bereits durch randomisierte Phase-III-Studien gesichert worden. So führt die zusätzliche Hyperthermie bei der Therapie von Mammakarzinomrezidiven und beim malignen Melanom zur Verbesserung der lokalen Tumorkontrolle und beim Glioblastom, Zervixkarzinom und bei Lymphknotenmetastasen maligner Kopf-Hals-Tumoren zur Verlängerung des Überlebens [16, 17]. Zur Hyperthermie oder Thermoradiotherapie des Prostatakarzinoms liegen keine randomisierten Phase-III-Studien vor.

2.3. Konventionelle und magnetisch induzierte Hyperthermie des Prostatakarzinoms

Unter den bisher entwickelten Verfahren für die regionale Hyperthermie sind Radiofrequenz, Mikrowellen- und Ultraschall-Techniken beim PCa klinisch eingesetzt worden [19, 20]. Dabei kann die Hyperthermie von extern perkutan oder interstitiell und hier speziell transrektal oder perineal durchgeführt werden. Die Prostata ist minimal-invasiven Methoden trotz der tiefen Lage im kleinen Becken gut zugänglich. Sie ist jedoch von Muskel, Fettgewebe, Knochen, luftgefülltem Rektum, flüssigkeitsgefüllter Blase und damit von Strukturen mit sehr unterschiedlicher Dichte und physikalischen Eigenschaft umgeben (dielektrische Konstante, Konduktivität).

Ziel der Hyperthermie im Rahmen einer Thermoradiotherapie ist eine Temperaturerhöhung von 40-44°C bei möglichst homogener Wärmeverteilung im Zielvolumen. Bei der regionalen Hyperthermie wird die Prostata mit ringförmig angeordneten phasengesteuerten Antennen im Radiowellenbereich (70-100MHz) erwärmt. Eine für die klinische Anwendung wichtige Weiterentwicklung betrifft die nicht-invasive Thermometrie. Mittels in die Applikatoren integrierter Magnetresonanztomographen kann die regionale Hyperthermie unter MR-Monitoring in sogenannten Hybridsystemen durchgeführt werden [21].

Eine homogene und ausreichende Erwärmung im Planungszielvolumen wurde jedoch aufgrund methodisch bedingter Probleme mit den genannten Applikatorverfahren nur selten erreicht. Bei der Radiofrequenz-Hyperthermie wird das elektrische Feld an Grenzflächen im Gewebe teilweise gestreut oder reflektiert sowie mit steigender Eindringtiefe absorbiert. Dies kann prinzipiell zu unerwünschter Erwärmung außerhalb des Zielvolumens und damit zu verminderter Temperatur im Zielgewebe führen. Externe Applikationen mit Mikrowellen zur Behandlung des Prostatakarzinoms bergen aufgrund eingeschränkter Steuerbarkeit die Gefahr der ungeplanten Erwärmung der Nachbarorgane Blase, Rektum und Harnröhre. Ultraschall kann dagegen besser fokussiert werden, führt aber an Grenzschichten wie Knochen oder flüssigkeitsgefüllten Hohlräumen durch Reflexion zu unerwünschten „hot spots“, die ebenfalls die erreichbaren Temperaturen im Zielvolumen einschränken können [22].

Mittels transrektaler Applikation können diese physikalischen Einschränkungen weitgehend umgangen werden, was aber mit deutlich schlechterer Verträglichkeit der Therapie einhergeht. So kann mit der inzwischen technisch ausgereiften HIFU-Methode eine effektive und ausreichend gut steuerbare Thermoablation des dorsalen, tumortragenden Anteils der Prostata erreicht werden, dies ist jedoch nur unter Narkose möglich. Bei fast allen Patienten wird überdies eine vorherige Verkleinerung des Prostatavolumens durch transurethrale Prostataresektion durchgeführt. Der fragliche Vorteil dieses Verfahrens gegenüber der nicht-invasiven Strahlentherapie hat bislang zu der Einschätzung geführt, dass eine sichere Indikation für HIFU nur bei Strahlentherapie-Versagern zu sehen ist [23]. Dies trifft auch für die interstitielle Radiofrequenz-Ablation (RITA) zu, die allerdings in lokaler Betäubung durchgeführt werden kann [24]. Im folgenden soll daher nicht auf die mit der Strahlentherapie konkurrierenden thermoablativen Verfahren, sondern auf Hyperthermie-Methoden eingegangen werden, die mit der Strahlentherapie sinnvoll kombiniert werden können.

Die Ergebnisse mehrerer Phase-I/II-Studien zur Thermoradiotherapie des Prostatakarzinoms unter Verwendung der beschriebenen Applikatortechnologien sind veröffentlicht worden [25-31]. Bei maximalen Temperaturen über 50°C (allerdings direkt an der Radiofrequenzantenne) betragen die mittleren in der Prostata gemessenen Temperaturen in diesen Studien zwischen 40 und 42°C, womit die angestrebten zytotoxischen Temperaturen mit konventionellen Verfahren bisher nicht erreicht wurden. Dennoch wurden in mehreren Studien günstigere Tumoransprech- bzw. -kontrollraten erreicht als in vergleichbaren historischen Patientenkollektiven mit der alleinigen Strahlentherapie, was auf einen zwar ungenügend zytotoxischen, aber ausreichend strahlensensibilisierenden Effekt der verabreichten Hyperthermie hindeutet [25, 26, 29].

Die Verträglichkeit der Hyperthermie war mit nahezu allen Methoden gut, mit Einschränkungen bei der transrektalen Applikation. Bei der interstitiellen Hyperthermie des PCa wurden höhere Maximaltemperaturen in der Prostata erreicht, andererseits wurde jedoch auch eine erhebliche Inhomogenität in der Temperaturverteilung nachgewiesen [25, 32]. Selbst durch aufwendige invasive Thermometrie mit bis zu 100 Messpunkten in der Prostata kann die tatsächliche dreidimensionale Temperaturverteilung nur ungenügend dargestellt werden [33].

Etablierte und ausreichend validierte Methoden für die nicht-invasive Thermometrie stehen für die Thermotherapie des PCa noch nicht zur Verfügung, zumal diese methodisch bedingt auch nicht für alle Applikationsverfahren der Hyperthermie anwendbar wären. In Anbetracht der bekannten Heterogenität und Multifokalität des PCa sollte - wie auch bei der Strahlentherapie - die gesamte Prostata als Zielvolumen abgedeckt werden. Aufgrund dieser Problematik ist bisher nicht eindeutig geklärt, welche Zieltemperatur in der Prostata im Rahmen einer Thermoradiotherapie angestrebt werden sollte. Es gibt überzeugende Hinweise, dass eine hohe Mindesttemperatur im überwiegenden Zielvolumen entscheidender für die Effektivität der Hyperthermie ist als die Maximaltemperatur [34, 35].

Eine mit der Strahlentherapie vergleichbare Homogenität in der Abdeckung des Zielvolumens ist mit den zur Verfügung stehenden Hyperthermie-Methoden nicht annähernd erreichbar. Daher erscheint die Applikation höherer Temperaturen in Teilen des Zielvolumens zur Erzeugung ausreichender Temperaturen im übrigen Bereich plausibel, um „cold spots“ zu vermeiden. Dies setzt eine ausreichende Steuerbarkeit der Thermotherapie zur Vermeidung von Toxizität für die angrenzenden Organe voraus.

Bei den meisten beschriebenen Methoden zur Thermoradiotherapie muss somit eine Kombination von direkt zytotoxischer Wirkung (Bereiche mit thermoablativen Temperaturen) und strahlensensibilisierenden Effekten (Bereiche mit hyperthermen Temperaturen) in der Prostata angenommen werden. Die Tatsache, dass keines der beschriebenen Hyperthermieverfahren bisher in einer Phase-III-Studie zur Thermoradiotherapie des PCa prospektiv gegen die alleinige Strahlentherapie evaluiert worden ist, verdeutlicht, dass hinsichtlich der Applikatortechnologie sowie der nicht-invasiven Thermometrie für dieses Organ noch Optimierungsbedarf besteht.

Ein Ansatz zur interstitiellen Erzeugung einer Hyperthermie, der weitgehend unabhängig von Gewebeinhomogenitäten und damit verbundenen Leistungseinschränkungen ist, ist die Magnetfeld-Hyperthermie. Dabei handelt es sich um die Erhitzung von ferromagnetischen Implantaten oder Partikeln in einem magnetischen Wechselfeld, die zuvor in den Tumor eingebracht werden. Durch Leistungsabsorption im Magnetfeld wird die Energie in Form von Wärme an das umliegende Gewebe abgegeben. Die zugrundeliegenden physikalischen Prozesse differieren je nach Größe und weiteren Eigenschaften der metallischen Implantate sowie der Stärke des Magnetfeldes. Prinzipiell besteht der Vorteil der Magnetfeld-Hyperthermie in der selektiven Erwärmung der Implantate im Zielvolumen, wobei das übrige Gewebe - im Gegensatz zum elektrischen Feld bei der Radiofrequenz-Hyperthermie - kaum Wechselwirkungen mit dem Magnetfeld eingeht [36].

An der Urologischen Klinik der Charité, Campus Mitte, wurden Seeds aus einer Kobalt-Palladium Legierung speziell für die Thermotheapie des PCa entwickelt [37, 38]. Inzwischen liegen Ergebnisse einer monozentrischen, prospektiven Phase-II-Studie in Kombination mit externer Strahlentherapie bei medianem Nachbeobachtungszeitraum von 3 Jahren vor [39]. Temperaturen zwischen 42 und 46°C wurden bei mehreren Patienten innerhalb der Prostata nachgewiesen. Die Besonderheit des Verfahrens liegt in der selbstregulierenden Eigenschaft dieser Seeds, wobei eine maximale Temperatur am sogenannten Curie-Punkt (55°C) nicht überschritten wird. Dies erleichtert die Steuerbarkeit der Therapie, weshalb auch keine systematische invasive Thermometrie erfolgte. Höhere Curie-Punkte (z.B. 70° C) können durch Erhöhung des Kobalt-Anteils erreicht werden, so dass Thermoseeds auch zur Thermoablation verwendet werden können [40, 41, Deger et al., unveröffentlichte Ergebnisse]. Die Verträglichkeit war insgesamt gut. Die korrekte Implantation der Seeds mit Abständen von möglichst exakt 1 cm und senkrechter Ausrichtung zum Magnetfeld ist Voraussetzung für eine effektive Therapie sowie die Vermeidung von Schäden an Rektum und Harnröhre.

Die Thermotheapie unter Einsatz magnetischer Nanopartikel, auch als Magnetflüssigkeits-Hyperthermie bezeichnet, stellt ein bereits 1957 von Gilchrist et al. in Ansätzen vorgestelltes Hyperthermiekonzept dar, welches jedoch erst 1993 von Jordan et al. systematisch untersucht, physikalisch charakterisiert und für den klinischen Einsatz weiterentwickelt wurde [42, 43, Seite 12]. Es kann gleichermaßen für die lokale oder regionale Therapie tief gelegener und schwer zugänglicher Tumoren eingesetzt werden.

Die Methode basiert auf der Erwärmung biokompatibler, superparamagnetischer Nanopartikel in wässriger Suspension, die eine Kerngröße von 15nm und eine Aminosilan-Umhüllung aufweisen. Diese Suspensionen zeichnen sich durch eine hohe Dichte magnetischer Nanopartikel pro Volumen und einer daraus resultierenden hohen

Leistungsabsorption (spezifische Absorptionsrate, SAR) in einem magnetischen Wechselfeld aus [42]. Im Vergleich zu den Thermoseeds besteht der Vorteil magnetischer Flüssigkeiten vor allem in der deutlich höheren Energieabsorption. Die ursprünglich als Kontrastmittel entwickelten Nanopartikel-Suspensionen wurden im Rahmen der Kontrastmittelprüfung hinsichtlich der Verteilung im Gewebe und der Bioverträglichkeit getestet. Durch Weiterentwicklungen im Bereich der Nanopartikelsynthese und -umhüllung konnten Magnetit-Suspensionen hergestellt werden, mit denen nicht nur eine intrazelluläre, sondern auch die selektive Aufnahme der Partikel in verschiedene Krebszellen, u.a. Prostatakarzinomzellen, nachgewiesen wurde [43, Seite 12]. Die Mechanismen, die diesem Phänomen auf zellulärer Ebene zugrundeliegen, sind bislang nicht im Detail bekannt. In einem Mausmodell (intramuskulär implantierte C3H-Mammakarzinome) war bereits ein erster Wirksamkeitsnachweis der Methode in vivo erbracht worden [44].

2.4. Zielstellung

Zielstellung der vorliegenden Arbeit war es, die Thermo-therapie mittels magnetischer Nanopartikel als mögliches neues Verfahren für die Therapie des PCa präklinisch und klinisch zu evaluieren.

In Experimenten mit einem Tiermodell des PCa (orthotoper Dunning-Tumor, MatLyLu-Subtyp) wurden folgende Fragen untersucht:

- Ist die Thermo-therapie mittels magnetischer Nanopartikel im orthotopen PCa-Modell der Ratte machbar?
- Wie homogen ist die Verteilung der Nanopartikel nach intraprostatischer Applikation?
- In welchem Umfang und wie lange verbleiben die Nanopartikel in der Prostata nach einmaliger Applikation?
- In welchem Umfang werden die Nanopartikel in andere Organe (Leber, Milz, Lungen) abtransportiert?
- Welche intraprostatischen Temperaturen werden erreicht?
- Welche systemische und lokale Toxizität wird beobachtet?
- Wird die Thermo-therapie ohne Narkose toleriert?
- Wie effektiv wird das Tumorstadium gehemmt?
- Wie strahlensensibel ist der MatLyLu-Dunning-Tumor der Ratte?
- Wie effektiv ist die kombinierte Thermo-radiotherapie des PCa in diesem Tiermodell?

In einer klinischen Phase-I-Studie bei Patienten mit einem gesicherten lokalen Progress eines PCa nach Therapie mit kurativer Intention wurden anschliessend folgende Fragen untersucht:

- Ist die Thermo-therapie mittels magnetischer Nanopartikel im (vorbehandelten) humanen PCa machbar?
- Welche systemische und lokale Toxizität wird beobachtet?
- Wird die Thermo-therapie ohne Narkose toleriert?

- Wird das Tumorwachstum durch die alleinige Thermotherapie gehemmt?
- Wie verändert sich die Lebensqualität während und nach der Thermotherapie mittels magnetischer Nanopartikel?
- Wie homogen ist die Verteilung der Nanopartikel in der humanen (vorbehandelten) Prostata?
- In welchem Umfang und wie lange verbleiben die Nanopartikel in der humanen Prostata nach einmaliger Applikation?
- Können die Nanopartikel mittels Computertomographie (CT) in der Prostata quantitativ nachgewiesen werden?
- Ist eine computergestützte dreidimensionale Planung der Thermotherapie mittels magnetischer Nanopartikel anhand von CT-Datensätzen machbar und sinnvoll?
- Welche Temperaturen werden mittels invasiver Thermometrie in der Prostata und intraluminal in Harnröhre und Rektum gemessen?
- Kann eine computerberechnete, nicht-invasive Thermometrie anhand der Korrelation von CT-Daten und invasiv gemessenen Temperaturen für diese Thermotherapie-Methode etabliert werden?
- Erscheint die Nanopartikel-Thermotherapie nach Auswertung der Ergebnisse prinzipiell für die Monotherapie, für die Kombination mit Strahlentherapie oder für beides geeignet?

Jordan A, Scholz R, Maier-Hauff K, Johannsen M, Wust P, Nadobny J, Schirra H, Schmidt H, Deger S, Loening SA, Lanksch W, Felix R. Presentation of a new Magnetic Field Therapy System for the Treatment of Human Solid Tumors with Magnetic Fluid Hyperthermia. J Magn Magn Mater 2001;225(1-2):118-126.

3. Machbarkeit der Nanopartikel-Thermotherapie im orthotopen Tiermodell

Johannsen M, Jordan A, Scholz R, Lein M, Koch M, Deger D, Roigas J, Jung K and Loening SA. Evaluation of magnetic fluid hyperthermia (MFH) in a standard rat model of prostate cancer. J Endourol 2004;18(5):495-500.

Der Dunning-Tumor der Ratte ist als Standardmodell für Untersuchungen des menschlichen PCa allgemein akzeptiert [45]. Das orthotope Tumormodell wurde aufgrund der besseren Übereinstimmung hinsichtlich einiger für eine Hyperthermie relevanter Faktoren wie dem lokalen Wachstumsverhalten und der Durchblutung gewählt, um aus den erhaltenen Ergebnissen Rückschlüsse auf eine mögliche Wirkung beim Menschen zu ziehen. Bei dem MatLyLu-Sybtyp handelt es sich um einen hormonunabhängigen, schnell wachsenden Tumor mit hoher Metastasierungspotenz, der jedoch eine sehr konstante Angehrate zeigt [46].

In ersten präklinischen Versuchen konnten die Durchführbarkeit, Steuerbarkeit während der Therapie und gute Verträglichkeit ohne Narkose an 20 Copenhagen-Ratten demonstriert werden. Nach Injektion der magnetischen Flüssigkeiten in die Prostatatumoren wurde die Hyperthermie durch Anlegen eines Magnetwechselfelds in einem eigens für Tierversuche konstruierten Magnetwechselfeldapplikator durchgeführt. Durch Regulierung der Feldstärke konnte die gewünschte Therapietemperatur eingestellt werden. Intratumorale Temperaturen von bis zu 50°C wurden erreicht. Weiterhin konnte durch Messungen des Eisengehaltes belegt werden, dass die Diffusion aus dem Zielorgan heraus sowie die Elimination der Aminosilan-Magnetite durch Makrophagen stark eingeschränkt ist, da 4 Tage nach Thermotheapie noch 79% der injizierten Dosis an Ferrit in der Rattenprostata und nur 5,9% in der Leber nachweisbar waren. Unter Hyperthermie war eine homogenere Verteilung der Nanopartikel als in unbehandelten Kontrolltieren zu beobachten, ein bereits bekanntes und von der Arbeitsgruppe um Dr. Jordan als „thermal bystander effect“ bezeichnetes Phänomen [44]. Histologisch imponierte eine hämorrhagische Nekrose mit homogener Verteilung der Aminosilan-Magnetite in den behandelten Tumoren. Ein Überlebensvorteil der behandelten Tiere gegenüber den Kontrollen wurde zwar beobachtet, eine Beurteilung war jedoch aufgrund der geringen Fallzahl nicht möglich.

4. Präklinische Ergebnisse der Nanopartikel-Thermotherapie des Prostatakarzinoms

Johannsen M, Thiesen B, Jordan A, Taymoorian K, Gneveckow U, Waldöfner N, Scholz R, Koch M, Lein M, Jung K, Loening SA. Magnetic fluid hyperthermia (MFH) reduces prostate cancer growth in the orthotopic Dunning R3327 rat model. Prostate 2005;64(3):283-92.

In weiteren systematischen Versuchen wurde eine konzentriertere Nanopartikel-Suspension mit modifizierter Hüllstruktur im gleichen Tumormodell an 48 Copenhagen-Ratten evaluiert. Es wurden 2 Thermotherapie-Sitzungen im Abstand von 48 Stunden durchgeführt. Es war keine systemische Toxizität erkennbar. In zwei Tieren kam es nach umschriebener Tumorkapselläsion mit Dislokation von Magnetit zwischen Prostata und Darm zu Abszedierungen. Bei Ausnutzung der zur Verfügung stehenden Feldstärke von von 15kA/m wurden maximale Temperaturen von über 70°C erreicht. Die Therapietemperatur betrug nach Begrenzung der Feldstärke auf 12,6kA/m maximal 50-63°C, wobei am Tumorrand noch Temperaturen von 40-45°C gemessen wurden. Zwei Sitzungen Thermotherapie im Abstand von 48 Stunden führten zu einer 44 bzw. 52% Wachstumsreduktion im Vergleich zu den Kontrollen (sham-operated bzw. Wachstumskontrollen). Eine Tumorkontrolle konnte somit durch die alleinige Thermotherapie bei bereits etablierten, im Mittel 0,74cm² grossen Tumoren in diesem aggressiven Tumormodell nicht erzielt werden. Dies wurde jedoch mit anderen Hyperthermie-Methoden selbst im heterotopen MatLyLu-Modell, das sich durch ein deutlich langsames Wachstumsverhalten auszeichnet, trotz früheren Therapiebeginns ebenfalls nicht erreicht [47, 48]. Von Bedeutung ist in diesem Zusammenhang auch die beobachtete Schwierigkeit, eine homogene Verteilung der Nanopartikel-Depots im Tumor unter Vermeidung von Fehlinjektion oder Verlust von Magnetit zu erzielen, was durch den hohen Tumordruck in diesem Modell erschwert wird. Eisenmessungen bei 36 Tieren ergaben, dass 10 Tage nach einmaliger Nanopartikel-Injektion im Mittel noch 83% der injizierten Eisenmenge im Prostatatumor nachweisbar war. In Leber, Milz und Lungen wurden nur geringe Mengen an Magnetit nachgewiesen. Diese hohe Gewebeständigkeit der Nanopartikel-Suspension stellte eine entscheidende Grundlage für die klinische Testung des Verfahrens dar, da nach einmaliger Applikation in die Prostata mehrere nicht-invasive Therapien durchführbar sein sollten. Die intratumorale Verteilung der Nanopartikel war jedoch mikroskopisch weniger homogen als in den Vorversuchen, was teilweise durch die höhere Konzentration, aber wahrscheinlich hauptsächlich durch die modifizierte Hüllstruktur bzw. Partikelsynthese zu erklären ist.

5. Nanopartikel-Thermotherapie in Kombination mit externer Bestrahlung im orthotopen Tiermodell

Johannsen M, Thiesen B, Gneveckow U, Taymoorian K, Waldöfner N, Scholz R, Deger S, Jung K, Loening SA, Jordan A. Thermotherapy using magnetic nanoparticles combined with external radiation in an orthotopic rat model of prostate cancer. Prostate 2006;66(1):97-104.

Im Hinblick auf die klinisch relevante Kombination der Hyperthermie mit Strahlentherapie wurde die Nanopartikel-Thermotherapie bereits im Tiermodell zusammen mit externer Bestrahlung evaluiert. Bei Beginn der Untersuchungen lagen keine publizierten Daten über die Effekte einer Strahlentherapie auf den orthotopen MatLyLu-Subtyp des relativ strahlenresistenten Dunning-Tumors der Ratte vor. Zunächst wurden daher Vorversuche durchgeführt, in denen die Wirkung verschiedener Strahlendosen (2x10Gy, 2x20Gy und 2x30Gy) auf das Tumorstadium in diesem Modell untersucht wurde. Die niedrigste Strahlendosis wurde für die anschließende kombinierte Behandlung gewählt.

Nach zweimaliger Thermotherapie und Bestrahlung mit jeweils 10Gy wurde eine Wachstumsreduktion von 88% gegenüber einer Wachstumsreduktion von 67% nach alleiniger Bestrahlung mit 2x10Gy erzielt. Die kombinierte Thermoradiotherapie war ebenso effektiv wie die alleinige Bestrahlung mit der dreifach höheren Dosis von 2x30Gy. Somit konnte ein signifikanter, mindestens additiver Effekt der Nanopartikel-Thermotherapie in Kombination mit Strahlentherapie dokumentiert werden, wobei hier die Messung von Tumorstadium und -gewicht am 20. Tag nach Nanopartikel-Applikation, jedoch keine Überlebensversuche durchgeführt wurden. Der Kurvenverlauf als Ausdruck der Wachstumsstärkung bei behandelten gegenüber unbehandelten Tieren lässt jedoch eine synergistische Wirkung der kombinierten Therapie vermuten, die bei der verwendeten Versuchsanordnung noch nicht nachweisbar war, nicht zuletzt auch aufgrund der bereits recht hohen Effektivität der niedrigsten eingesetzten Strahlendosis. Zur Untersuchung der optimalen Dosis, Therapiesequenz und -frequenz von Thermotherapie und Strahlentherapie beim orthotopen MatLyLu-Dunning-Tumor der Ratte wären somit weitere Experimente sinnvoll. Zur Thermoradiotherapie des PCa grundsätzlich existiert jedoch bereits eine Fülle experimenteller Daten [49-54].

Wie schon nach alleiniger Thermotherapie, konnte auch in der Gruppe der kombinierten Thermoradiotherapie mittels Eisenmessungen eine hohe Gewebestabilität der Nanopartikel dokumentiert werden.

6. Machbarkeit der Nanopartikel-Thermotherapie beim humanen Prostatakarzinom: Therapieplanung und Thermometrie

Johannsen M, Gneveckow U, Eckelt L, Feussner A, Waldöfner N, Scholz R, Deger S, Wust P, Loening SA, Jordan A. Clinical hyperthermia of prostate cancer using magnetic nanoparticles: Presentation of a new interstitial technique. Int J Hyperthermia 2005;21(7):637-47.

Für die klinische Evaluation der Nanopartikel-Thermotherapie beim PCa wurde eine prospektive Pilotstudie bei 10 Patienten mit einem histologisch nachgewiesenen, lokal progredienten PCa durchgeführt. Dabei handelte es sich um Patienten mit lokalem Progress nach kurativer Strahlentherapie oder einem Lokalrezidiv nach radikaler Prostatektomie und anschließender Strahlentherapie, bei denen keine Fernmetastasen vorlagen und bei denen lokale Therapiealternativen nicht zur Verfügung standen bzw. vom Patienten oder Therapeuten aufgrund der Vorbehandlung abgelehnt worden waren. Alle Patienten hatten zuvor Strahlentherapie, 8 hatten bereits multiple Vorbehandlungen erhalten. Endpunkte waren die Durchführbarkeit, Verträglichkeit und Toxizität der Therapie. Insbesondere sollte die Darstellung mit bildgebenden Verfahren und die nicht-invasive Temperaturberechnung mittels Korrelation mit invasiver Thermometrie untersucht werden.

Im Rahmen der ersten klinischen Anwendungen der Nanopartikel-Thermotherapie wurden grundsätzliche Erkenntnisse hinsichtlich der Machbarkeit gewonnen. Vor Applikation der Nanopartikel-Suspensionen wurden Dünnschicht-CT Aufnahmen der Prostata durchgeführt. Die dreidimensionale Anatomie von Prostata, Urethra, Rektum und Becken wurde mittels einer speziellen Software bildlich dargestellt. Ein für die Anwendung bei der Prostata entwickeltes Modul (MagForce NanoPlan[®]) wurde für die Vorplanung der optimalen Verteilung der Magnetofluiddepots im Zielvolumen verwendet. Die Applikation der Nanopartikel-Suspensionen erfolgte unter Benutzung eines Templetts nach den in der Planung festgelegten Vorgaben, analog dem in der LDR-Brachytherapie üblichen Verfahren. Nach der 1. und 6. Thermotherapie erfolgten weitere Dünnschicht-CT Aufnahmen für die Dokumentation der Verteilung sowie für die Analyse der Temperaturen. In diesen ersten Anwendungen war die Thermotherapie planbar und durchführbar, wenn auch die Vorgaben hinsichtlich der Verteilung der Nanopartikel-Depots nicht präzise umgesetzt werden konnten. Lediglich lokale Nebenwirkungen irritativer Natur wurden beobachtet. Eine CT-gestützte, nicht-invasive Temperaturberechnung erwies sich als machbar und korrelierte weitgehend mit den invasiv gemessenen Temperaturen. Die Nanopartikel-Depots waren im CT auch nach 6 Wochen noch weitgehend unverändert in der Prostata nachweisbar und zu diesem Zeitpunkt auch noch erhitzbar.

7. Phase-I-Studie zur Nanopartikel-Thermotherapie des Prostatakarzinoms: Bildgebende Darstellung und Analyse der dreidimensionalen Temperaturverteilung

Johannsen M, Gneveckow U, Thiesen B, Taymoorian K, Cho CH, Waldöfner N, Scholz R, Jordan A, Loening SA, Wust P. Thermotherapy of Prostate Cancer Using Magnetic Nanoparticles: Feasibility, Imaging and Three-Dimensional Temperature Distribution. Eur Urol, 2006 Nov 17; [Epub ahead of print].

Für die Beurteilung der Sensitivität des CT zur bildgebenden Darstellung der Nanopartikel-Suspensionen, auf der die nicht-invasive Temperaturberechnung basiert, wurden experimentelle Versuche an Gewebeproben durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass im Median 89,5% der als Nanopartikel-Suspension applizierten Eisenmenge mittels Dünnschicht-CT detektiert werden kann.

In Anlehnung an die Phase-I- und II-Studien zur Evaluation von Thermoseeds beim PCa wurden 6 Thermotherapie-Sitzungen im Abstand von je 1 Woche durchgeführt [39]. Auf der Grundlage der Bio-Heat-Transfer-Gleichung nach Pennes wurden anhand der im CT sichtbaren Nanopartikel-Depots und deren Verteilung im Zielvolumen sowie der ebenfalls sichtbaren Positionen der Thermometrie-Katheter bei allen Patienten die Eisenmenge, die SAR und damit die Temperatur innerhalb der Prostata berechnet und visuell dargestellt. Dabei wurde die Perfusion in der Prostata in der Weise zugrundegelegt, dass die berechnete Temperatur mit der invasiv gemessenen Temperatur in den einzelnen Messpunkten übereinstimmte. Die mediane Anzahl invasiver Messpunkte in der Prostata betrug 28 (11-35). Auf diese Weise konnte die Temperatur im gesamten Zielvolumen anhand der tatsächlich gemessenen Werte berechnet werden. Bei maximalen invasiv gemessenen Temperaturen in der Prostata von bis zu 55°C betragen die mittleren Temperaturen in 20%, 50% und 90% des Prostatavolumens 41,1 (40,0-47,4), 40,8 (39,5-45,4) und 40,1°C (38,8-43,4). Die mittlere thermische Dosis, berechnet als kumulative äquivalente Minuten bei 43°C in 90% der Prostata (CEM43°C_{T90}) betrug 20,9 min (Median: 7,8 min). Somit konnte innerhalb dieser Phase I-Studie erstmals systematisch eine Methode zur nicht-invasiven Temperaturberechnung, die mit invasiv gemessenen Temperaturen korreliert, für die Nanopartikel-Thermotherapie etabliert werden. Die im Zielvolumen erreichten Temperaturen in dieser Studie waren mit denen früherer Studien anderer Autoren vergleichbar, die thermische Dosis war jedoch höher als in anderen Studien [25, 26, 27]. Die homogene Verteilung der Suspensionen in die vorbestrahlten Prostatatumoren gelang nur suboptimal. Im CT nach der 6. Therapiesitzung konnte ein nur geringer Verlust an Magnetit in der Prostata dokumentiert werden. Dementsprechend war bei jedem Patienten 6 Wochen nach einmaliger Nanopartikel-Applikation noch eine Hyperthermie durchführbar. Die angegebenen Temperaturen wurden bei einer Feldstärke von 4-5kA/m erreicht. Diese Feldstärke wurde über die Therapiedauer von 1 Stunde toleriert, entspricht jedoch nur 25% der maximal verfügbaren Feldstärke des Magnetfeldapplikators. Aufgrund der quadratischen Abhängigkeit der SAR von der applizierten Feldstärke besteht das Potenzial, noch wesentlich höhere Temperaturen zu erzielen [42].

8. Phase-I-Studie zur Nanopartikel-Thermotherapie des Prostatakarzinoms: Toxizität, Effektivität und Analyse der Lebensqualität

Johannsen M, Gneveckow U, Taymoorian K, Thiesen B, Waldöfner N, Scholz R, Jung K, Jordan A, Wust P, Loening SA. Morbidity and quality of life during thermotherapy using magnetic nanoparticles in locally recurrent prostate cancer: results of a prospective phase I trial. Int J Hyperthermia, im Druck.

Die therapiebedingten Akut- und Spätnebenwirkungen sowie Komplikationen im Rahmen dieser Phase-I-Studie wurden unter Verwendung der CTC-2.0 Toxizitätskriterien des National Cancer Institute (NCI) ausgewertet. Es wurde keine systemische Toxizität beobachtet. Bei 4 Patienten mit vorbekannten Harnröhrenstrikturen bzw. kompensierten Blasenentleerungsstörungen nach vorangegangener Strahlentherapie kam es zum akuten Harnverhalt. In allen Fällen war eine temporäre Harnableitung erforderlich, die nach der Therapie wieder entfernt werden konnte. Dysurische Miktionsbeschwerden Grad 3 traten in 2 Fällen, Grad 1-2 in weiteren 5 Fällen auf und bestanden für die Dauer der ersten Therapiewochen. Bei einem Patienten trat eine fieberhafte Schwellung in der Leiste auf, die am ehesten einem noch nicht eingeschmolzenen Abszess entsprach, der keine Nanopartikel enthielt und nach antibiotischer Therapie folgenlos abheilte. In diesem Fall wurde die Therapie zunächst verzögert fortgesetzt und dann vor der letzten Sitzung Thermotherapie abgebrochen. Ein Phänomen, welches unter Magnetfeld-Thermotherapie bei einigen Patienten beobachtet wurde, war das Auftreten punktueller Erhitzungen bis maximal 44°C im anogenitalen Hautbereich, besonders in Hautfalten, in Zusammenwirken mit Schweiß.

Die Lebensqualität wurde unter Verwendung international anerkannter Standard-Fragebögen der EORTC (QLQ C30 und QLQ PR25-Modul) vor Therapie, in der 3. und 6. Therapiewoche sowie 3 und 6 Monate nach Thermotherapie evaluiert [55, 56]. Die Auswertung ergab, dass die globale Lebensqualität nicht eingeschränkt war, ebenso lagen keine Verschlechterungen der körperlichen Funktion und der behandlungsbedingten Symptome vor. Signifikante Einschränkungen bzw. Beschwerden traten in den Bereichen Soziale Funktion und Rollenverständnis sowie Müdigkeit, Schmerz, Miktionsbeschwerden und Sexuelle Funktion auf. Bis auf die Soziale Funktion waren alle Einschränkungen ab der 6. Woche bis dem 3. Monat nach Thermotherapie wieder deutlich rückläufig oder nicht mehr vorhanden.

Bei Therapieabschluss (6. Woche) war in 8 Fällen ein PSA-Abfall und in 2 Fällen ein weiterer Anstieg zu verzeichnen. Bei einem Patienten wurde ein > 50% PSA-Abfall erreicht. Nach 6 Monaten war bei 9 der 10 Patienten ein erneuter PSA-Anstieg zu beobachten. Bildgebende Untersuchungen wiesen bei 3 Patienten mit prognostisch ungünstigem Risikoprofil in der Nachbeobachtungszeit einen systemischen Progress als Ursache für den PSA-Anstieg nach. Bei diesen Patienten wurde keine abschliessende Stanzbiopsie der Prostata vorgenommen. Bei 4 Patienten mit steigendem PSA erfolgte die Stanzbiopsie 1 Jahr nach Thermotherapie der Prostata und wies jeweils einen lokalen Progress nach.

Die Nanopartikel-Depots waren sowohl in der CT-Darstellung der Prostata als auch histologisch 1 Jahr nach Thermotherapie noch fast unverändert nachweisbar.

9. Diskussion

Im Rahmen der in dieser Habilitationsschrift dargestellten Forschungsvorhaben wurden zunächst die experimentellen Grundlagen für die klinische Anwendung der Thermotherapie mittels magnetischer Nanopartikel zur Behandlung des PCa geschaffen.

Die Machbarkeit und Wirksamkeit der Thermotherapie konnte allein und in Kombination mit externer Strahlentherapie im orthotopen Dunning-Tumor der Ratte nachgewiesen werden. Die prinzipielle Eignung der Nanopartikel-Thermotherapie sowohl für hypertherme als auch für thermoablative Anwendungen, in Abhängigkeit von der gewählten Stärke des Magnetfeldes, konnte demonstriert werden. Die modifizierte Hüllstruktur der verwendeten Nanopartikel ermöglicht durch die sehr gute Gewebeständigkeit wiederholte Therapien nach einmaliger intratumoraler Applikation. Zur Untersuchung der optimalen Dosis, Therapiesequenz und -frequenz von Thermotherapie und Strahlentherapie beim MatLyLu-Subtyp des orthotopen Dunning-Tumors der Ratte wären weitere Experimente sinnvoll, um die optimalen Bedingungen für eine synergistische Wirkung zu ermitteln.

Die Übertragbarkeit der tierexperimentellen Daten auf Menschen ist grundsätzlich nur mit Einschränkungen möglich. Der Grund dafür liegt nicht nur in artspezifischen Unterschieden, sondern auch darin, dass die für experimentelle Untersuchungen geeigneten PCa-Modelle meist ein wesentlich aggressiveres Wachstumsverhalten aufweisen als das humane PCa zum Zeitpunkt der Diagnose. So gibt es beispielsweise erhebliche Unterschiede zwischen Nager-Modellen und dem Menschen in der Effektivität der Strahlentherapie und der Dauer des synergistischen Effektes von Hyperthermie und Bestrahlung beim PCa [54].

Die Thermoradiotherapie des PCa mit verschiedenen thermischen Verfahren wurde bereits von einigen Autoren experimentell untersucht [49-54]. Der Unterschied zwischen Nanopartikel-Thermotherapie und anderen Verfahren hinsichtlich der biologischen Wirkung auf zellulärer Ebene ist wahrscheinlich eher quantitativer als qualitativer Natur. Es gibt zumindest bislang keinen Anhalt für eine unterschiedliche Qualität oder zusätzliche Wirkungsmechanismen der Nanopartikel-Thermotherapie gegenüber den bekannten, vor allem auf Proteinebene zu beobachtenden zellulären Effekten der Hyperthermie.

Die Bedeutung der intrazellulären Hyperthermie, die mit den in dieser Studie verwendeten Nanopartikeln zuvor nachgewiesen wurde, ist in diesem Zusammenhang noch unklar [43]. Allein aufgrund der physikalischen Eigenschaften wie der vergleichsweise sehr hohen Energieabsorption in einem magnetischen Wechselfeld ist die Verwendung von Nanopartikel-Suspensionen für Thermotherapie-Zwecke bereits sehr erfolgversprechend.

Die bildgebende Darstellung der Nanopartikel-Depots im Zielgewebe ist für die Applikation und für die thermische Analyse von grosser Bedeutung. Die Kernspintomographie kann wegen Auslöschungsphänomenen im Bereich der Nanopartikel nicht verwendet werden. Ultraschall eignet sich gut für die Kontrolle der Injektion, nicht aber für eine Darstellung der magnetischen Flüssigkeiten selbst. Dem

Dünnschicht-CT kommt hier die herausragende Bedeutung zu, da die Nanopartikel-Suspensionen mit diesem Verfahren gut visualisiert werden können. Die Sensivität der Detektion mittels CT betrug im Median 89,5% der applizierten Eisenmenge, was für eine Qualitätskontrolle und thermische Analyse ausreichend ist. Sehr kleine oder weitläufig verteilte Mengen an Magnetit innerhalb oder ausserhalb des Zielgewebes entgehen möglicherweise der Detektion, führen jedoch auch zu keiner relevanten Erhitzung in einem magnetischen Wechselfeld.

Auf der Grundlage der experimentellen Ergebnisse wurde die erste klinische Studie zur Anwendung der Thermotherapie mittels magnetischer Nanopartikel in der Behandlung des PCa durchgeführt. Die intraprostatiche Injektion der Nanopartikel-Suspensionen erfolgte nach einer aufwendigen, CT-basierten Vorplanung. Dieses minimal-invasive Verfahren erwies sich als machbar, die Analyse der Verteilung der Nanopartikel-Depots in der Prostata ergab jedoch, dass die Vorgaben der Planung bei der Mehrzahl der Patienten nicht präzise umgesetzt werden konnten. Dies liegt grösstenteils am erheblichen Gewebswiderstand der vorbestrahlten Prostatadrüsen, so dass zur Erzielung einer homogenen Verteilung eine sehr langsame und präzise Injektion erforderlich ist. Ein Lerneffekt bezüglich der Injektionstechnik war innerhalb dieser Phase-I-Studie zu beobachten.

Im Gegensatz zu den bisher noch suboptimalen Verteilungseigenschaften der Nanopartikel im Zielvolumen steht ihre hervorragende Gewebeständigkeit. So waren die intraprostaticen Depots 1 Jahr nach einmaliger Applikation sowohl im CT als auch histologisch weitgehend unverändert nachweisbar, wobei jedoch kein Versuch einer erneuten Erhitzung erfolgte. Potentiell wären in Zukunft mehr als 6 Thermotherapie-Sitzungen durchführbar. Bei der primären Therapie des PCa sollte durch den geringeren Gewebswiderstand im Vergleich zur vorbestrahlten Prostata eine präzisere Umsetzung der Vorplanung bei der Injektion und somit eine homogenere Verteilung der Nanopartikel zu erreichen sein.

Ein Schwerpunkt der klinischen Erprobung bestand in der Thermometrie. Bei allen Patienten wurden invasive und intraluminale Temperaturmessungen sowie nicht-invasive Berechnungen durchgeführt. Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen zur konventionellen Hyperthermie des PCa, nach denen die alleinige invasive Thermometrie keine adäquate Darstellung der dreidimensionalen intratumoralen Temperaturverteilung liefert, konnten bestätigt werden. Durch die theoretische Entwicklung und klinische Etablierung einer Methode zur Qualitätskontrolle und zur nicht-invasiven Temperaturberechnung im Zielvolumen wurde eine wesentliche Voraussetzung für die weitere klinische Anwendung der Nanopartikel-Thermotherapie - auch bei anderen Tumorentitäten - geschaffen.

Diese Methode erfordert weitere klinische Validierung, wofür sich die Prostata aufgrund der relativ einfachen Möglichkeit der invasiven Thermometrie eignet. Thermoablative Temperaturen wurden nur in umschriebenen Bereichen der Prostata erreicht, da aufgrund therapiebedingter Nebenwirkungen nur 25-30% der verfügbaren Feldstärke über einen ausreichenden Zeitraum appliziert werden konnte.

Die in der vorliegenden Studie gemessenen mittleren Temperaturen entsprechen weitgehend den bisher publizierten Daten beim PCa und erfüllen bereits die Voraussetzungen für eine sinnvolle Kombination mit der Strahlentherapie. Aufgrund der

mehrfachen sequentiellen Behandlungen sind die berechneten kumulativen thermischen Dosen höher als in bisher publizierten Studien. Bei optimierter Injektionstechnik mit Erzielung einer homogenen Verteilung der Nanopartikel in der Prostata sowie Applikation höherer Feldstärken können jedoch erheblich höhere Temperaturen erzielt werden, so dass auch eine Thermoablation als Monotherapie prinzipiell möglich erscheint. Eine geringe Erhöhung der Feldstärke, z.B. von 4 auf 6 kA/m, würde aufgrund der quadratischen Abhängigkeit der spezifischen Absorptionsrate (SAR) von der Feldstärke nahezu mit einer Verdopplung der SAR einhergehen und damit wesentlich höhere Temperaturen ermöglichen.

Die Nanopartikel-Thermotherapie des PCa erwies sich in dieser ersten Studie ohne Narkose als ausreichend gut verträglich. In Abhängigkeit von der Feldstärke wurden jedoch auch unspezifische Interaktionen des Magnetfeldes mit dem Gewebe in Form zweier verschiedener Phänomene beobachtet:

Zum einen kann eine unerwünschte Erwärmung ausserhalb des Zielvolumens an Grenzflächen zwischen verschiedenen Geweben, z.B. Knochen und Weichgeweben, ohne Einwirkung von Nanopartikeln entstehen. Die lokale Entzündungsreaktion in der Leiste, die bei einem der Patienten im Rahmen dieser Studie aufgetreten war, könnte durch thermische Irritation an Grenzschichten von Geweben unterschiedlicher Dichte entstanden sein, da Eisenpartikel in der betroffenen Region nicht nachgewiesen werden konnten. Diese Phänomene sind von den wesentlich stärkeren elektrischen Feldern unter Radiofrequenz-Hyperthermie bekannt, können jedoch auch bei der Magnetfeld-Hyperthermie nicht ausgeschlossen werden. Tiefe, schwer lokalisierbare Missempfindungen oder Schmerzen im Bereich der Hüften, des Dammbereiches oder der Leistenregion wurden auch von anderen Patienten angegeben, traten aber ausschliesslich während der Therapie auf, waren von der Feldstärke abhängig und führten zu keinen erkennbaren dauerhaften Beschwerden. Aufgrund dieser Phänomene wurde die Feldstärke auf 4-4,5 kA/m begrenzt. Bei Erhöhung auf 5 kA/m erhöhte sich die Prostatatemperatur umgehend um mehrere Grade, dies wurde jedoch meist nur 5-10 min toleriert.

Das zweite Phänomen, welches im Rahmen der durchgeführten Studie beobachtet wurde und ebenfalls unabhängig von der Einwirkung magnetischer Nanopartikel mit dem Gewebe war, ist die Erwärmung an der Haut im anogenitalen Bereich. Dies kann durch Ringströme erklärt werden, die an solchen Arealen bei sinkendem Hautwiderstand zu Kurzschlüssen mit daraus resultierender Erwärmung führen. Dieses Phänomen ist von der Grösse und Intensität des Magnetfeldes und dem Durchmesser des im Spalt befindlichen Körperteils abhängig. So wurden bei der Hitzebehandlung von Hirntumoren mit magnetischen Nanopartikeln im Vergleich zur Behandlung von Beckenorganen wesentlich höhere magnetische Feldstärken toleriert (10-14 kA/m) [57]. Es kann durch Kühlung, Trocknung und Ventilation minimiert werden. Durch Fokussierung des Magnetfeldes kann die unerwünschte Erwärmung ausserhalb des Zielvolumens wahrscheinlich reduziert werden. Entsprechende technische Optimierungen des universell konzipierten Magnetfeldapplikators für die Behandlung von Patienten mit einem PCa werden derzeit implementiert.

Die Evaluation der Lebensqualität belegt, dass die Thermotherapie mittels magnetischer Nanopartikel eine gut verträgliche Methode darstellt, die nur mit einer moderaten und zeitlich begrenzten Minderung der Lebensqualität einhergeht. Allerdings

muss kritisch bemerkt werden, dass die Aussagekraft der Lebensqualitätsanalyse aufgrund der geringen Fallzahl eingeschränkt ist.

Systemische Nebenwirkungen der Nanopartikel-Thermotherapie wurden nicht beobachtet. Bei einem Patienten mit steigendem PSA wurde eine hiläre Lymphknotenmetastase histologisch gesichert. Es handelt sich um eine für das PCa atypische Metastasenlokalisation. Ein Zusammenhang mit der Thermotherapie erscheint aufgrund der Grösse der Raumforderung von 3,4 cm kaum möglich, der betreffende Bereich wurde jedoch vor Beginn der Therapie nicht im Schnittbildverfahren untersucht, so dass nicht geklärt werden kann, ob diese Metastase bereits vor der Therapie bestand. Der trotz der Thermotherapie rasch steigende PSA-Verlauf mit einer Verdopplung innerhalb der Therapiedauer von 6 Wochen deutet auf eine vorbestehende Metastasierung hin.

Da vereinzelte Berichte über eine erhöhte Metastasierungstendenz unter einer Hyperthermie aus Tierversuchen, u.a. auch beim PCa, bekannt sind, kann eine eventuelle Beschleunigung des Wachstums dieser Metastase unter der Thermotherapie nicht ausgeschlossen werden [58]. Es existieren allerdings auch mehrere systematische experimentelle Studien, in denen keine vermehrte Metastasierung durch Hyperthermie oder Thermoablation beim Prostatakarzinom nachgewiesen werden konnte [59, 60]. Berichte über eine durch Hyperthermie oder Thermoablation induzierte Metastasierung beim humanen PCa liegen in der Literatur nicht vor.

Auch wenn tierexperimentelle Daten aufgrund des unterschiedlichen biologischen Verhaltens der Tumormodelle nicht ohne Weiteres auf den Menschen übertragbar sind, haben diese Berichte Auswirkungen auf das Vorgehen bei der klinischen Thermoradiotherapie humaner Tumore gehabt. So wird in vielen Zentren die Strahlentherapie einige Tage vor der Hyperthermie begonnen, unter anderem auch um eine Hemmung des Tumorwachstums zu erreichen und einer Metastasierungstendenz vorzubeugen (persönliche Mitteilung von Dr. J. Van der Zee, Rotterdam).

Insgesamt hatte die alleinige Nanopartikel-Thermotherapie in dieser ersten Pilotstudie nur einen vorübergehenden Effekt auf das Tumorwachstum des PCa. In Anbetracht der Tatsache, dass 8 der 10 Patienten mehrfach und davon 4 multipel vorbehandelt waren, bei 2 dieser Patienten ein androgenunabhängiges und bei einem weiteren Patienten ein hormonrefraktäres Stadium vorlag, ist die ungenügende antitumorale Wirkung der Thermotherapie erklärbar. Eine aussagekräftige Analyse der onkologischen Wirksamkeit ist innerhalb dieser ersten Machbarkeitsstudie und unter Berücksichtigung des Patientenkollektivs nicht möglich.

In einer weiteren Phase-I-Studie der Nanopartikel-Thermotherapie in Verbindung mit Strahlentherapie bei Rezidivtumoren verschiedener Entität, im Rahmen derer auch Patienten mit einem Prostatakarzinom behandelt worden sind, wurden bereits erste Erfahrungen mit der kombinierten Salvage-Brachytherapie in Kombination mit Nanopartikel-Thermotherapie gewonnen [61]. In Kombination mit LDR-Brachytherapie (Dosis 90-100 Gy) wurden andauernde PSA-Abfälle im Sinne einer anhaltenden Tumorkontrolle bei mehreren Patienten beobachtet [Wust et al., unveröffentlichte Ergebnisse]. Die Kombinationstherapie war trotz vorheriger Bestrahlung mit ausreichender Verträglichkeit durchführbar.

Die weitere Erprobung der Methode in Kombination mit externer oder interstitieller Strahlentherapie beim PCa erscheint somit sinnvoll. Mögliche zukünftige Indikationen betreffen den weiteren Einsatz der Nanopartikel-Thermotherapie zusammen mit einer Salvage-Brachytherapie bei lokalem Progress nach Strahlentherapie sowie in Kombination mit externer oder interstitieller Strahlentherapie in der primären Therapie des PCa.

Eine multizentrische Phase-II-Wirksamkeitsstudie zur Thermotherapie mit magnetischen Nanopartikeln in Kombination mit LDR-Brachytherapie (¹²⁵Jod-Seeds, 145 Gy vorgeschriebene Dosis) beim PCa mit intermediärem Risiko hat bereits mit der Rekrutierung begonnen. Eingeschlossen werden nur Patienten mit intermediärem Risikoprofil nach Kriterien des National Comprehensive Cancer Network (NCCN), die die Standardtherapien (radikale Prostatektomie und externe Strahlentherapie) ablehnen. Diese Patientengruppe erhält bislang eine perkutane Aufsättigung zusätzlich zur Brachytherapie (Seeds-Implantation mit 110 Gy plus 45 Gy externe Bestrahlung), die jedoch den Vorteil der Brachytherapie als einmalige Applikation aufhebt und überdies zu signifikant höherer Spättoxizität führt [Wust et al., unveröffentlichte Daten].

Da die technische Durchführung der minimal-invasiven Applikation von Jod-Seeds und Nanopartikel-Suspensionen unter identischen und bereits standardisierten Bedingungen erfolgt und in einer einzigen Sitzung möglich ist, erscheint eine Kombinationstherapie bestehend aus diesen beiden Verfahren vorteilhaft. Der entscheidende Vorteil liegt jedoch in der optimalen Ausnutzung des synergistischen Potentials beider Behandlungsmodalitäten. Die überzeugende Rationale für die Kombination von Hyperthermie mit kontinuierlicher Strahlentherapie bei niedriger Dosisrate wird seit langem propagiert [62]. Ein solches Konzept ist jedoch bislang nicht klinisch realisiert worden.

Den primären Endpunkt der Studie bildet die Verbesserung der lokalen Tumorkontrolle (PSA-Kontrolle) nach 5 Jahren durch die Kombination aus LDR-Brachytherapie und Thermotherapie mit magnetischen Nanopartikeln im Vergleich mit eigenen historischen Patientenkollektiven. Sekundäre Endpunkte sind Toxizität und Lebensqualität, die prospektiv erfasst werden. Für die Rekrutierung der 130 vorgesehenen Patienten sind 4 Brachytherapie-Zentren und ein Zeitraum von 3 Jahren vorgesehen. Die Nachbeobachtungszeit in dieser Studie wird 5 Jahre umfassen.

Unter der Voraussetzung, dass verbesserte bildgebende und diagnostische Verfahren in Zukunft die isolierte Behandlung der karzinombefallenen Anteile der Prostata ermöglichen, wäre eine dem Brustkrebs ähnliche Entwicklung im Sinne einer zunehmenden Abkehr von der radikalen, ablativen Chirurgie vorstellbar. Ein Trend zu selektiveren minimal-invasiven Therapieverfahren des PCa mit geringerer Morbidität und Einschränkung der Lebensqualität hat längst eingesetzt.

Die Nanopartikel-Thermotherapie könnte in Zukunft allein oder in Kombination mit Strahlentherapie einen Beitrag zu einer selektiven, schonenden Behandlung des PCa leisten, die ambulant durchführbar ist und mit weitgehendem Erhalt der Kontinenz, Potenz und Lebensqualität einhergeht. Für die Monotherapie als Thermoablation sind langfristig Weiterentwicklungen des Magnetfeldapplikators erforderlich, die die nebenwirkungsarme Applikation höherer Feldstärken erlauben.

An der Entwicklung modifizierter, systemisch applizierbarer Nanopartikel-Suspensionen für andere Anwendungen als Alternativen zur direkten intratumoralen Injektion wird bereits intensiv gearbeitet. Eine aussichtsreiche Möglichkeit ist das passive Targeting der Nanopartikel durch den enhanced permeation and retention (EPR) Effekt, der eine verbesserte Tumor-Anreicherung bei verringerter systemischer Toxizität ermöglicht. Auf dieser Grundlage wurde beispielsweise das liposomale Doxorubicin (Caelyx bzw. Doxil) entwickelt, welches beim Brustkrebs eingesetzt wird. Auch ein aktives targeting durch Antikörper (z.B. gegen PSA oder prostataspezifisches Membranantigen, PSMA) oder andere Liganden wie Hormone (Testosteron), Vitamine (Biotin, Folsäure) oder Wachstumsfaktoren (z.B. Transferrin) kann Nanopartikel zu Tumorzellen dirigieren. Die zusätzliche Beladung der Nanopartikel mit Wirkstoffen – ein so genanntes drug targeting – kann dabei die Wirkung der lokalen Thermotherapie verstärken, insbesondere wenn dabei Zytostatika ausgewählt werden, die eine bekannte Synergie zur Hyperthermie aufweisen.

10. Zusammenfassung

Die Magnetfeld-Hyperthermie unter Verwendung von Eisenoxid-Nanopartikeln vereint die Vorteile einer kontaktlosen, selektiven thermischen Therapie tief gelegener Tumore mit der höchstmöglichen spezifischen Energieabsorption und Erhitzung des Zielgewebes. Sie stellt die logische und konsequente Weiterentwicklung bisher verwendeter metallischer Implantate für diese Form der thermischen Therapie dar.

Im Rahmen der in dieser Habilitationsschrift dargestellten Forschungsvorhaben wurden die experimentellen Grundlagen für die klinische Anwendung der Thermotherapie mittels magnetischer Nanopartikel zur Behandlung des PCa geschaffen. Die Machbarkeit, Verträglichkeit und Wirksamkeit der Thermotherapie allein und in Kombination mit Strahlentherapie konnten erstmals im orthotopen Dunning-Tumor der Ratte nachgewiesen werden. Die prinzipielle Eignung der Nanopartikel-Thermotherapie sowohl für hypertherme als auch für thermoablative Anwendungen, in Abhängigkeit von der gewählten Stärke des Magnetfeldes, konnte demonstriert werden. Die modifizierte Hüllstruktur der verwendeten Nanopartikel ermöglicht durch die sehr gute Gewebeständigkeit wiederholte Thermotherapien nach einmaliger intratumoraler Applikation.

Im Rahmen der weltweit ersten klinischen Studie zur Anwendung der Thermotherapie mittels magnetischer Nanopartikel in der Behandlung des PCa erwies sich dieses minimal-invasive Verfahren als machbar und ohne Narkose ausreichend gut verträglich. Daten zur Toxizität und Veränderung der Lebensqualität während und nach Nanopartikel-Thermotherapie des PCa wurden erhoben und können im Hinblick auf zukünftige Kombinationsbehandlungen als Grundlage dienen. Durch die Entwicklung einer Methode zur Qualitätskontrolle und zur nicht-invasiven Temperaturberechnung im Zielvolumen wurde eine wesentliche Voraussetzung für die weitere klinische Anwendung der Nanopartikel-Thermotherapie geschaffen. Im Gegensatz zu den bisher noch suboptimalen Verteilungseigenschaften der Nanopartikel im Zielvolumen steht ihre hervorragende Gewebeständigkeit, die ein Therapiefenster von mehreren Monaten ermöglicht.

Zunächst erscheint die weitere Erprobung der Methode beim PCa in Kombination mit Strahlentherapie sinnvoll, insbesondere mit kontinuierlicher Strahlentherapie bei niedriger Dosisrate. Eine Phase-II-Studie zur kombinierten LDR-Brachytherapie und Nanopartikel-Thermotherapie bei Patienten mit PCa und intermediärem Risikoprofil wurde bereits initiiert. Der Vorteil dieses Konzeptes liegt in der strahlenbiologisch optimalen Ausnutzung des synergistischen Potentials beider Behandlungsmodalitäten. Die Nanopartikel-Thermotherapie könnte in Zukunft allein oder in Kombination mit Strahlentherapie einen Beitrag zu einer selektiven, schonenden Behandlung des PCa leisten, die ambulant durchführbar ist und mit weitgehendem Erhalt der Kontinenz, Potenz und Lebensqualität einhergeht.

11. Fremdliteratur

- 1 Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin* 2005;55:10-30.
- 2 Zietman AL, Shipley WU, Willet CG. Residual disease after radical surgery or radiation therapy for prostate cancer - clinical significance and therapeutic implications. *Cancer* 1993;71:959-969.
- 3 Bolla M, Collette L, Blank L, Warde P, Dubois JB, Mirimanoff RO, Storme G, Bernier J, Kuten A, Sternberg C, Mattelaer J, Lopez Torecilla J, Pfeffer JR, Lino Cutajar C, Zurlo A, Pierat M. Long-term results with immediate androgen suppression and external irradiation in patients with locally advanced prostate cancer (an EORTC study): a phase III randomized trial. *Lancet* 2002;360(9327):103-6.
- 4 Merrick GS, Wallner KE, Butler WA. Permanent interstitial brachytherapy for the management of carcinoma of the prostate gland. *J Urol* 2003;169:1643-1652.
- 5 Peschel RE, Colberg JW. Surgery, brachytherapy and external-beam radiotherapy for early prostate cancer. *Lancet Oncol* 2003;4:233-241.
- 6 Zagars GK, Pollack A, von Eschenbach AC. Prognostic factors for clinically localized prostate carcinoma. *Cancer* 1997;79:1370-80.
- 7 Deger S, Boehmer D, Turk I, Roigas J, Wernecke KD, Wiegel T, Hinkelbein W, Dinges S, Budach V, Loening SA. High dose rate brachytherapy of localized prostate cancer. *Eur Urol* 2002;41:420-6.
- 8 Walsh PC, Donker PJ. Impotence following radical prostatectomy: Insight into etiology and prevention. *J Urol* 1982;182:492-497.
- 9 Young MD, Weizer AZ, Silverstein AD et al. Urinary incontinence and quality of life in the first year after radical perineal prostatectomy. *J Urol* 2003;170:2374-2378.
- 10 Anscher S, Prosnitz LR. Postoperative radiotherapy for patients with carcinoma of the prostate undergoing radical prostatectomy with positive surgical margins, seminal vesicle involvement and/or penetration through the capsule. *J Urol* 1987; 138:1407-12.
- 11 Nudell DM, Grossfeld GD, Weinberg VK, Roach M 3rd, Carroll PR. Radiotherapy after radical prostatectomy: treatment outcomes and failure patterns. *Urology* 1999; 54:1049-57.
- 12 Raaphorst GP, Romano SL, Mitchell JB, Bedford JS, Dewey WC. Intrinsic differences in heat and/or x - ray sensitivity of seven mammalian cell lines cultured and treated under identical conditions. *Cancer Res* 1979;39:396-401.

- 13 Hildebrandt B, Wust P, Ahlers O, Dieing A, Sreenivasa G, Kerner T, Felix R, Riess H. The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2002;43:33-56.
- 14 Kampinga HH, Dikomey E. Hyperthermic radiosensitization: mode of action and clinical relevance. *Int J Radiat Biol* 2001;77:399-408.
- 15 Song CW, Shakil A, Osborn JL. Tumor oxygenation is increased by hyperthermia at mild temperatures. *Int J Hyperthermia* 1996;12:367-373.
- 16 Wust P, Hildebrandt B, Sreenivasa G, Rau B, Gellermann J, Riess H, Felix R, Schlag PM. Hyperthermia in combined treatment of cancer. *Lancet Oncol* 2002;3:487-97.
- 17 Van der Zee J. Heating the patient: a promising approach? *Ann Oncol* 2002;13:1173-84.
- 18 Moseley PL. Mechanisms of heat adaptation: thermotolerance and acclimatization. *J Lab Clin Med* 1994;123:48-52.
- 19 Coughlin CT. Interstitial Thermo-Brachytherapy. In: Nag S (ed) *Principles and practice of brachytherapy*. Futura publishing, Armonk, New York; 1997,639-647.
- 20 Stauffer PR. Evolving technology for thermal therapy of cancer. *Int J Hyperthermia* 2005;21:731-744.
- 21 Wust P, Gellermann J, Seebass M, Föhling H, Turner P, Wlodarczyk W, Nadobny J, Rau B, Hildebrandt B, Oppelt A, Schlag PM, Felix R. Part-body hyperthermia with a radiofrequency multi-antenna applicator under online control in a 1,5 T MR-tomograph. *Ro Fo* 2004;176:363-74.
- 22 Diederich CJ, Hynynen K. The development of intracavitary ultrasonic applicators for hyperthermia: a design and experimental study. *Med Phys* 1990;17:626-634.
- 23 Gelet A, Chapelon JY, Poissonnier L, Bouvier R, Rouviere O, Curiel L, Janier M, Vallencien G. Local recurrence of prostate cancer after external beam radiotherapy: early experience of salvage therapy using high-intensity focused ultrasonography. *Urology* 2004;63:625-629.
- 24 Shariat SF, Raptidis G, Masatoschi M, Bergamaschi F, Slawin KM. Pilot study of radiofrequency interstitial tumor ablation (RITA) for the treatment of radio-recurrent prostate cancer. *Prostate* 2005;65(3):260-7.
- 25 Van Vulpen M, De Leeuw AA, Raaymakers BW, Van Moorselaar RJ, Hofman P, Legendijk JJ, Battermann JJ. Radiotherapy and hyperthermia in the treatment of patients with locally advanced prostate cancer: preliminary results. *BJU Int* 2004;93:36-41.
- 26 Anscher MS, Samulski TV, Dodge R, Prosnitz LR, Dewhirst MW. Combined external beam irradiation and external regional hyperthermia for locally advanced adenocarcinoma of the prostate. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997;37:1059-1065.
- 27 Hurwitz MD, Kaplan ID, Hansen JL, Prokopios-Davos S, Topulos GP, Wishnow K, Manola J, Bornstein BA, Hynynen K. Hyperthermia combined with radiation in treatment of locally advanced prostate cancer is associated with a favourable toxicity profile. *Int J Hyperthermia* 2005;21:649-656.
- 28 Algan O, Fosmire H, Hynynen K, Dalkin B, Cui H, Drach G, Stea B, Cassady JR. External beam radiotherapy and hyperthermia in the treatment of patients with locally advanced prostate carcinoma. *Cancer* 2000;89:399-403.

- 29 Kalapurakal JA, Pierce M, Chen A, Sathiaseelan V. Efficacy of irradiation and external hyperthermia in locally advanced, hormone-refractory or radiation recurrent prostate cancer: a preliminary report. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003;57:654-664.
- 30 Fosmire H, Hynynen K, Drach GW, Stea B, Swift P, Cassady JR. Feasibility and toxicity of transrectal ultrasound hyperthermia in the treatment of locally advanced adenocarcinoma of the prostate. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993;26:253-59.
- 31 Prionas SD, Kapp DS, Goffinet DR, Ben-Yosef R, Fessenden P, Bagshaw MA. Thermometry of interstitial hyperthermia given as an adjuvant to brachytherapy for the treatment of carcinoma of the prostate. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994;28:151-62.
- 32 Van Vulpen M, De Leeuw AAC, Van de Kamer JB, Kroeze H, Boon TA, Warlam-Rodenhuis CC, Lagendijk JJ, Battermann JJ. Comparison of intra-luminal versus intratumoral temperature measurements in patients with locally advanced prostate cancer treated with the coaxial TEM system: report of a feasibility study. *Int J Hyperthermia* 2003;19:481-497.
- 33 Van Vulpen M, Raaymakers BW, Lagendijk JJ, Crezee J, De Leeuw AAC, Van Morselaar JRA, Ligtoet CM, Battermann JJ. Three-dimensional controlled interstitial hyperthermia combined with radiotherapy for locally advanced prostate carcinoma – a feasibility study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002;53:116-126.
- 34 Dewhirst MW, Sim DA, Sapareto S, Connor WG. Importance of minimum tumor temperature in determining early and long term response of spontaneous canine and feline tumors to heat and radiation. *Cancer Res* 1984;44:43-50.
- 35 Thrall DE, Rosner GL, Azuma C, Larue SM, Case BC, Samulski T, Dewhirst MW. Using units of CEM 43°C T90, local hyperthermia thermal dose can be delivered as prescribed. *Int J Hyperthermia* 2000;16:415-428.
- 36 Moroz P, Jones SK, Gray BN. Magnetically mediated hyperthermia: current status and future directions. *Int J Hyperthermia* 2002;18:267-284.
- 37 Deger S, Böhmer D, Türk I, Franke M, Roigas J, Budach V, Loening SA. Thermoradiotherapy with interstitial thermoseeds in treatment of local prostatic carcinoma. Initial results of a phase II study. *Urologe A* 2001; 403:195-198.
- 38 Deger S, Böhmer D, Roigas J, Türk I, Budach V, Loening, SA. Interstitial hyperthermia using thermoseeds in combination with conformal radiotherapy for localized prostate cancer. In: Wiegel T, Heicappell R, Miller K, Hinkelbein W (eds) *Controversies in Uro-Oncology*, vol. 36. *Front Radiat Ther Oncol*, Karger, Basel, 2002,171-176.
- 39 Deger S, Taymoorian K, Boehmer D, Schink T, Roigas J, Wille AH, Budach V, Wernecke KD, Loening SA. Thermoradiotherapy using interstitial self-regulating thermoseeds: an intermediate analysis of a phase II trial. *Eur Urol* 2004;45:574-579.
- 40 Tucker RD, Huidobro C, Larson T, Platz CE. Use of permanent interstitial temperature self-regulating rods for ablation of prostate cancer. *J Endourol* 2000;14:511.
- 41 Master VA, Shinohara K, Carroll PR. Ferromagnetic thermal ablation of locally recurrent prostate cancer: prostate specific antigen results and immediate/intermediate morbidities. *J Urol* 2004;172:2197-2202.
- 42 Jordan A, Wust P, Föhling H, John W, Hinz A, Felix R. Inductive heating of ferrimagnetic particles and magnetic fluids: physical evaluation of their potential for hyperthermia. *Int J Hyperthermia* 1993;9,1:51-68.

- 43 Jordan A, Scholz R, Wust P, Schirra H, Schiestel T, Schmidt H, Felix R. Differential Endocytosis of dextran and silan-coated magnetite nanoparticles and the effect of intracellular hyperthermia on human mammary carcinoma cells in vitro. *J Magn Magn Mater* 1999;194:185-196.
- 44 Jordan A, Wust P, Scholz R, Mitrovics T, Föhling H, Gellermann J, Vogl T, Cervos-Navarro J, Felix R. Effects of Magnetic Fluid Hyperthermia (MFH) on C3H mammary carcinoma in vivo. *Int J Hyperthermia* 1997;13:587-605.
- 45 Lucia MS, Bostwick DG, Bosland M, Cockett AT, Knapp DW, Leav I, Pollard M, Rinker-Schaeffer C, Shirai T, Watkins BA. Workgroup I: rodent models of prostate cancer. *Prostate* 1998;36:49-55.
- 46 Isaacs JT, Isaacs WB, Feitz WFJ and 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* 1986;9:261-281.
- 47 Tucker RD, Loening SA, Landas S, Mardan AH, Ren ZY, Lubaroff DM. The in vivo effect of regional hyperthermia on dunning R3327 prostatic tumor. *Prostate* 1991; 18:321-329.
- 48 Tucker RD, Loening SA, Landas S, Paulus JA, Ren ZY and Park JB. The effect of interstitial hyperthermia on the Dunning prostate tumor model, *J Urol* 1992;147:1129-1133.
- 49 Gottlieb CF, Seibert GB, Block NL. Interaction of irradiation and microwave-induced hyperthermia in the Dunning R3327 prostatic adenocarcinoma model. *Radiology* 1988;169:243-247.
- 50 Peschke P, Hahn EW, Wenz F, Lohr F, Braunschweig F, Wolber G, Zuna I, Wannemacher M. Differential sensitivity of three sublines of the rat Dunning prostate tumor system R3327 to radiation and/or local tumor hyperthermia. *Radiat Res* 1998;150:190-194.
- 51 Peschke P, Hahn EW, Wolber G, Hildenbrand D, Zuna I. Interstitial radiation and hyperthermia in the Dunning R3327 prostate tumour model: therapeutic efficacy depends on radiation dose-rate, sequence and frequency of heating. *Int J Radiat Biol* 1996;70:609-616.
- 52 Peschke P, Heimburg S, Wolber G, Zuna I, Hahn EW. Improved therapeutic response by distinct timing of multiple heat treatments during interstitial radiation in the Dunning R3327 prostate tumor model. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998;124:172-178.
- 53 Mittelberg KN, Tucker RD, Loening SA, Moseley P. Effect of radiation and hyperthermia on prostate tumor cells with induced thermal tolerance and the correlation with HSP70 accumulation. *Urol Oncol* 1996;2: 146-51.
- 54 Kampinga HH, Dikomey E. Hyperthermic radiosensitization: mode of action and clinical relevance. *Int J Radiat Biol* 2001;77:399-408.
- 55 Aaronson NK, Ahmedzai S, Bergmann B, Bullinger M, Cull A, Duez NJ, Filiberti A, Flechtner H, Fleishman SB, de Haes JC. The European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) QLQ-C30: a quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:365-376.
- 56 Borghede G, Sullivan M. Measurement of quality of life in localized prostatic cancer patients treated with radiotherapy. Development of a prostate cancer-specific module supplementing the EORTC QLQ-C30. *Qual Life Res* 1996;5:212-222.

- 57 Maier-Hauff K, Rothe R, Scholz R, Gneveckow U, Wust P, Thiesen B, Feussner A, Von Deimling A, Waldöfner N, Felix R, Jordan A. Intracranial Thermotherapy using Magnetic Nanoparticles Combined with External Beam Radiotherapy: Results of a Feasibility Study on Patients with Glioblastoma Multiforme. *J Neurooncol* 2007;81(1):53-60.
- 58 Lein M, Koenig F, Misdraji J, McDougal WS, Jung K, Loening SA, Hasan T, Ortel B. Laser-induced hyperthermia in rat prostate cancer: role of site of tumor implantation. *Urology* 2000;56:167-172.
- 59 Greenstein A, Koontz WW Jr. Does local hyperthermia affect metastasis of a human prostate carcinoma grown in athymic nude mice? *Int J Hyperthermia* 2002;18:285-91.
- 60 Bataille N, Vallencien G, Chopin D. Antitumoral local effect and metastatic risk of focused extracorporeal pyrotherapy on Dunning R-3327 tumors. *Eur Urol* 1996;29:72-77.
- 61 Wust P, Gneveckow U, Johannsen M, Feussner A, Henkel T, Kahmann F, Sehouli J, Felix R, Ricke J, Jordan A. Magnetic nanoparticles for interstitial thermotherapy - Feasibility, tolerance and achieved temperatures. *Int J Hyperthermia*, in press.
- 62 Armour EP, Raaphorst GP. Long duration mild temperature hyperthermia and brachytherapy. *Int J Hyperthermia* 2004;20(2):175-89.

12. Danksagung und Eidesstattliche Erklärung

Bei Herrn Prof. Dr. Stefan A. Loening möchte ich mich für das mir entgegengebrachte Vertrauen, die Anregung zum Thema und die mir zuteil gewordene Förderung ausdrücklich bedanken. Die vorliegenden Forschungsprojekte wären ohne seine eigenen wissenschaftlichen Arbeiten auf dem Gebiet sowie seine stete Aufgeschlossenheit gegenüber Neuem nicht zustande gekommen. Prof. Loening wird mir als unkonventioneller Lehrer und als Persönlichkeit stets ein Vorbild bleiben.

Herrn Prof. Dr. Dietmar Schnorr bin ich ebenfalls für die stets gewährte Unterstützung und Hilfe bei meiner urologischen Ausbildung und bei der Durchführung der Forschungsvorhaben zu großem Dank verpflichtet.

Herrn Prof. Dr. Klaus Jung gebührt mein Dank für die stete Hilfsbereitschaft und für die große Unterstützung bei der Auswertung der präklinischen und klinischen Ergebnisse.

Herrn Dr. Andreas Jordan und Frau Regina Scholz verdanke ich die Möglichkeit der Erprobung der Methode, die nur auf dem Boden ihrer wissenschaftlichen Vorarbeiten und Erfahrungen sowie durch das innovative Konzept eines Nanotechnologie-Kompetenzzentrums möglich war.

Die Konzeption und Durchführung der Versuche wäre ohne die unschätzbare Hilfe von Herrn Dr. Burghard Thiesen nicht möglich gewesen, bei dem ich mich für die erfolgreiche und äußerst angenehme Zusammenarbeit bedanke.

Herrn Dipl. Ing. Uwe Gneveckow bin ich für den unermüdlichen und kompetenten Einsatz bei der klinischen Studie, deren Durchführung und Auswertung ohne ihn nicht möglich gewesen wäre, zu besonderem Dank verpflichtet.

Herrn Prof. Dr. Dipl. Phys. Peter Wust gebührt mein Dank für die kollegiale und freundschaftliche Zusammenarbeit und die Unterstützung des Vorhabens, sowie für seine Kompetenz auf dem Gebiet der Hyperthermie, von der ich in vielen Diskussionen profitieren durfte.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Roland Felix bin ich für die Förderung der Hyperthermie zu Dank verpflichtet, ohne die das vorliegende Forschungsprojekt nicht hätte durchgeführt werden können.

Weiterhin danke ich Herrn Dr. Norbert Waldöfner, Herrn Dipl. Ing. Volker Brüß, Fr. Dr. Claudia Abramjuk sowie den Mitarbeitern der Forschungs- und Hyperthermie-Abteilungen für die Zusammenarbeit und kritische Diskussionen. Nicht zuletzt möchte ich meinen Kollegen aus der Klinik für die Hilfe und Unterstützung danken.

Für bleibende Inspiration danke ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. Detlef Schuppan und meinem Freund Prof. Dr. Ali Hafezi-Moghadam.

Meinem Onkel Herrn Prof. Dr. Ernst-Otto Riecken gilt mein Dank für die Möglichkeit der studentischen Ausbildung und Promotion in seiner Abteilung, die für mich ein entscheidender Impuls für die weitere wissenschaftliche Tätigkeit war.

Ein ganz besonderer Dank, der keiner Erläuterung bedarf, gebührt meiner Frau Antje, meinen Eltern, Schwiegereltern und meinen beiden Brüdern.

ERKLÄRUNG

(gemäß Habilitationsordnung der Charité)

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass

- mir keine staatsanwaltlichen Ermittlungsverfahren anhängig sind,
- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst wurde,
- die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, den 05.01.2007

Manfred Johannsen