

# 1. Einleitung und Grundlagen

## 1.1. Harnblasenkarzinom

### 1.1.1. Epidemiologie

Neben kardiovaskulären Erkrankungen stellen maligne Neoplasien die häufigste Todesursache in der westlichen Welt dar **(49)**. Das Karzinom der Harnblase ist mit einer Inzidenz von 2-3% eher selten, steht aber bei den durch das Rauchen begünstigten Karzinomerkrankungen an zweiter Stelle nach dem Lungenkarzinom **(49)**. Nach Angaben des Tumorzentrums München beträgt die Rate der Neuerkrankungen in Deutschland rund 16000 Fälle pro Jahr. Männer sind im Durchschnitt 3mal häufiger als Frauen betroffen. Damit steht das Harnblasenkarzinom bei Männern zur Zeit auf Platz 5, bei Frauen auf Platz 11 der Häufigkeitsskala von Krebserkrankungen **(49)**. In den letzten Jahren zeigte sich jedoch eine Zunahme bei Frauen. In den USA befindet sich das Harnblasenkarzinom bei Männern an vierter Stelle mit 6% aller Karzinomerkrankungen, bei Frauen an zehnter Stelle mit 2% aller jährlich neu diagnostizierten Tumorerkrankungen **(28)**.

Die Mehrzahl (70%) der Harnblasenkarzinome werden zu einem frühen Zeitpunkt diagnostiziert, zu dem sie sich häufig in einem oberflächlichen, nicht invasiven Stadium befinden. Aufgrund ihrer hohen lokalen Rezidivneigung von ca. 40% nach transurethraler Tumorsektion (TURB) mit steigendem Risiko für das Auftreten von muskelinvasivem Wachstum stellt diese Tumorart für den Menschen jedoch eine besondere Gefahr dar **(31)**. Selbst bei zusätzlich durchgeführter adjuvanter Therapie tritt innerhalb von 5 Jahren in mehr als der Hälfte der Fälle (70%) ein erneutes Harnblasenkarzinom auf **(49)**. Weitere Hauptkomplikationen der Urothelkarzinome sind eine Infiltration der Ureteren mit Ausbildung von Harnstau und die Metastasierung sowohl in die lokalen Lymphknoten als auch hämatogen in Leber, Lunge und Knochen **(62)**.

### 1.1.2. Ätiologie und Risikofaktoren

Über 90% der Tumore der ableitenden Harnwege gehen aus Übergangsepithel (Urothel) hervor **(49;62)**. Seltene Beispiele für Karzinome der ableitenden Harnwege sind Adenokarzinome in 1-2% und Plattenepithelkarzinome in insgesamt 7% der Fälle **(28;49)**. Urothelkarzinome können prinzipiell panurethral auftreten **(49)**. In der Praxis finden sich jedoch 93% der Tumore in der Harnblase, da diese knapp 90% der Oberfläche der ableitenden Harnwege beansprucht und der Urin am längsten in ihr verweilt. Die Verweildauer der im Urin befindlichen Karzinogene für die Krebsentstehung scheint wichtig zu sein, da diese häufig erst metabolisiert werden müssen um ihre Wirkung zu entfalten **(49)**.

Alter und Geschlecht sind die bedeutsamsten prädisponierenden Faktoren in der Ausbildung eines Harnblasenkarzinoms. Männer sind bis zu dreimal häufiger als Frauen betroffen. Weitere wesentliche Risikofaktoren sind die Rassenzugehörigkeit und geographische Gesichtspunkte, wobei z.B. Farbige seltener von Urothelkarzinomen betroffen sind. Das Urothelkarzinom tritt außerdem häufiger in Südafrika als in Europa oder Asien auf **(39;49)**. Diskutiert wird unter anderem die Rolle des Polymorphismus von Enzymen, welche bei der Aktivierung oder dem Abbau von karzinogenen Substanzen im Körper beteiligt sind. Viele Gene für Stoffwechsellenzyme sind in unterschiedlichen ethnischen Gruppen unterschiedlich häufig vertreten. Für Polymorphismen entgiftender Enzyme wie N-Acetyltransferasen und Cytochromen konnte ein Zusammenhang mit der Inzidenz von Harnblasenkarzinomen gezeigt werden. Variationen bei Folsäure metabolisierenden Enzymen, DNA-Reparatur-Enzymen und Gluthathion S-Transferasen sollen ebenfalls eine Rolle spielen **(22;30;50;57;65;71)**.

Pathogenetisch von Bedeutung sind mehrere Faktoren. Ein Beispiel hierfür ist der Tabakkonsum. Der Rauch von Zigaretten enthält 2-Naphthylamin, welches kanzerogen wirkt. Ferner spielen Medikamenteneinnahmen, wie beispielsweise von Phenazetin eine Rolle. Das aktive Karzinogen ist ein Stickstoffhydroxylmetabolit mit der chemischen Struktur eines aromatischen Amins. Darüber hinaus kann Phenazetin eine interstitielle Nephritis induzieren **(49)**. Eine Immunsuppression mit Cyclophosphamid, welches die

Blasenschleimhaut schädigt und eine Zystitis auslösen kann, soll ebenfalls für die Entstehung von Harnblasenkarzinomen verantwortlich sein **(43)**.

Bei Beschäftigten in der Farbstoff-, Petro- und chemischen Industrie, sowie in teerverarbeitenden Betrieben, in welchen aromatische Amine über Gastrointestinaltrakt, Lunge und Haut aufgenommen werden können, konnte weiterhin eine erhöhte Rate an Harnblasenkarzinomen festgestellt werden **(49)**.

Teilweise wird Arsen, das zum Beispiel als Bestandteil von Chemotherapeutika gegen Syphilis (Arsphenamin) und in seiner anorganischen Form (Fowler-Lösung) bei der Psoriasis eingesetzt wurde, für die Harnblasenkarzinomentstehung angeschuldigt **(19;39)**. Arsenbelastetes Trinkwasser als Risikofaktor für die Entstehung eines Harnblasenkarzinoms konnten Lamm et al. mit den in mehreren Staaten der USA vorgefundenen Konzentrationen von Arsen im Trinkwasser jedoch nicht bestätigen **(46)**. Eine karzinogene Wirkung durch Arsenbelastung in höheren Dosierungen schließt diese Feststellung dennoch nicht aus.

Des Weiteren spielen chronische Endzündungen und Infekte eine Rolle, da zum einen das Urothel direkt geschädigt wird, zum anderen es zu einer endzündungsbedingten Nitrosaminbildung kommen kann. Zu nennen sind hier durch Medikamenteneinnahme und durch Bilharziose, einer Infektion mit Eiern von Saugwürmern der Gattung Schistosoma, verursachte Zystitiden **(43;49)**. Von Bedeutung könnten ferner durch Dauerkatheter, Steinleiden oder Fremdkörper bedingte chronische Harnwegsinfekte sein **(39)**. Ob humane Papilloma-Viren Einfluss auf die Genese des Harnblasenkarzinoms nehmen, ist zum jetzigen Zeitpunkt noch ungeklärt **(39)**.

Konsum hochprozentiger Alkoholika mit möglicher Schädigung des Harnblasenurothels soll laut neueren Studien nicht signifikant mit dem Auftreten von Harnblasenkrebs assoziiert sein, wobei aber in verschiedenen Biersorten Spuren von Nitrosaminen nachzuweisen sind **(21)**. Es wird hingegen andererseits diskutiert, ob Ethanol die hepatische Metabolisierung von Nitrosaminen behindert, über diesen Mechanismus ihre Konzentration im Körper erhöht und somit die Ausbildung von Harnblasenkarzinomen begünstigt **(2)**.

Nicht zuletzt werden Haarfärbemittel mit der Entstehung des Harnblasenkarzinoms in Verbindung gebracht, da eine erhöhte Inzidenz bei Friseuren festzustellen war **(3)**. Für Frauen, welche im Zusammenhang mit der Anwendung von Haarfärbemitteln ein Harnblasenkarzinom entwickelten, konnte eine Assoziation mit einem Polymorphismus von Stoffwechsellenzymen festgestellt werden. Danach waren Trägerinnen des

Genotyps für langsam arbeitende Arylamin-metabolisierende Enzyme wie N-Acetyltransferase 1, 2 und Cytochrom P4501A2 häufiger nach Exposition betroffen als Trägerinnen genotypisch schneller Enzyme **(22;30)**.

Es ist davon auszugehen, dass längst nicht alle Karzinogene bekannt sind, da häufig eine lange Latenzperiode zwischen Einwirkung und Ausbildung eines Karzinoms liegt **(49)**.

### 1.1.3. Einteilung des Harnblasenkarzinoms

Die Wände der ableitenden Harnwege, wie auch der Harnblase (Vesica urinaria), zeigen einen dreischichtigen Aufbau:

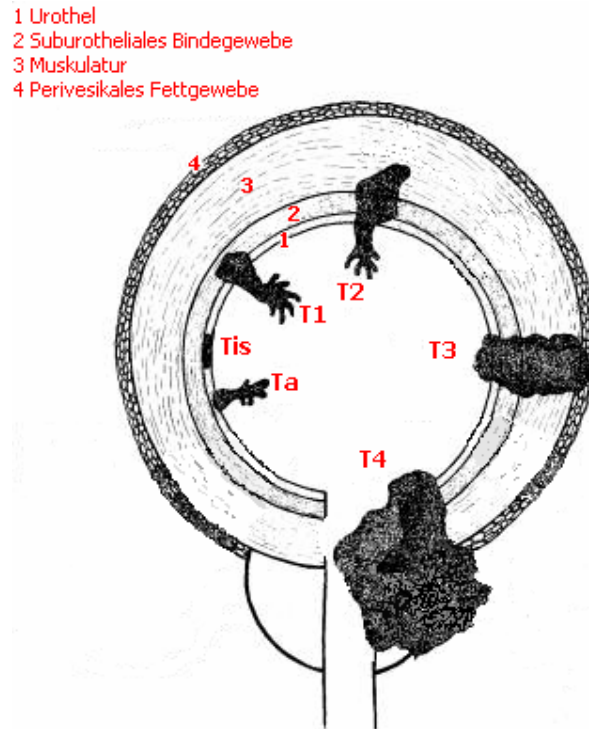
- Schleimhaut (Tunica mucosa) mit Übergangsepithel und Bindegewebe (Lamina propria)
- Muskelschicht (Tunica muscularis) aus innerer und äußerer Muskellage
- Bindegewebshülle bzw. seröse Haut (Tunica adventitia bzw. Tunica serosa)

Als Übergangsepithel (Urothel) bezeichnet man die aus 3 Schichten aufgebaute Innenauskleidung der Harnblase. Das Übergangsepithel liegt einer Basalmembran auf. Innerhalb der Lamina propria findet sich subepithelial ein ausgedehnter Blutgefäßplexus mit einem ausgeprägten Kapillarnetz und sensiblen Nervenendigungen **(49)**.

Das Urothelkarzinom lässt sich histologisch in oberflächliche und infiltrierende Tumoren unterteilen, welche sich wiederum unterschiedlichen Stadien zuordnen und anhand der TNM-Klassifikation einteilen lassen. Die TNM-Klassifikation berücksichtigt Tumorausdehnung (T), Lymphknotenbeteiligung (N) und Metastasierung (M). Bei der Ausdehnung des Tumors werden zunächst nichtinvasive Tumoren (Tis, d.h. Carcinoma in situ und Ta, d.h. nichtinvasiver papillärer Tumor) unterschieden **(45;49)**. Als Carcinoma in situ wird ein Karzinom ohne exophytisch papilläres Wachstum und ohne Infiltration der Basalmembran bzw. darüber hinaus bezeichnet. Histologisch zeigen sich Zeichen der Anaplasie, die sich durch einen Verlust der regulären Epithelschichtung auszeichnet **(62)**. Wie in Abbildung 1 dargestellt, wird ferner unterteilt in Tumore, die bis in die Lamina propria (T1), innere Tunica muscularis (T2), äußere Muskularis bzw. bis ins Perivesikalgewebe der Harnblase infiltrieren (T3) oder sogar darüber hinaus in

benachbarte Organe einwachsen (T4). Die Lymphknotenmetastasierung wird unterteilt in keine (N0), solitär und  $\leq 2$  cm im größten Durchmesser (N1), solitär und 2-5 cm bzw. multipler Lymphknotenbefall  $\leq 5$  cm im Durchmesser (N2), bis hin zu Lymphknotenmetastasen größer als 5 cm (N3). M0 bezeichnet fehlende Fernmetastasen, M1 hingegen ihr Vorhandensein **(45;49)**. Die Metastasierung erfolgt lymphogen in die regionalen Lymphknoten und hämatogen in Leber, Lunge und Knochenmark **(62)**. Übergangsepithelzellkarzinome weisen Differenzierungsstörungen des Epithels (Dysplasie) und mikroskopische Zeichen der Atypie wie abnorme Zellreifung, vermehrt Mitosen, Kernpolychromasie, Verschiebung der Kern-Plasma-Relation, Vergrößerung der Nukleolen und/oder Zeichen des invasiven Wachstums auf **(62)**. Je nach Ausprägung der Atypien ist der Tumor gut, mäßig oder schlecht differenziert bis hin zu undifferenziert, bzw. anaplastisch, wobei das Ursprungsgewebe nicht mehr zu erkennen sein kann (G1-G4). Für die Klassifikation werden auch Schleimhautatypien in der Umgebung des Tumors berücksichtigt. Die Veränderungen reichen von D0 (normale Schleimhaut), D1 (leichte Dysplasie), D2 (mittelgradige Dysplasie) bis hin zu D3/Tis (schwere Dysplasie bzw. Carcinoma in situ) **(49)**.

Beim Harnblasenkarzinom handelt es sich in der Mehrzahl der Fälle um oberflächliche, papilläre Karzinome (Ta). Nur in ca. 20-30% der Fälle liegt bei der Erstdiagnose bereits ein muskelinvasives Karzinom vor **(28;49)**. Es wird angenommen, dass muskelinvasive Tumore aus oberflächlichen, papillären Tumoren (Ta) entstehen können, im Besonderen, wenn in der Umgebung des Tumors weitere Schleimhautatypien anzutreffen sind **(49)**. Andererseits sollen sich muskelinvasive Karzinome aus einem Carcinoma in situ (Tis) entwickeln können **(24)**.



**Abbildung 1:** Schema zur TNM-Stadieneinteilung des Harnblasenkarzinoms (modifiziert nach: Liedl, B. et al. <sup>(49)</sup>)

#### 1.1.4. Therapie des Harnblasenkarzinoms

Die Behandlung des Harnblasenkarzinoms richtet sich nach dem Tumorstadium, aber auch nach dem Allgemeinzustand, dem Alter und Begleiterkrankungen des Patienten. Bei oberflächlichen Harnblasenkarzinomen wird zur Diagnosesicherung und zur Therapie die endoskopische transurethrale Tumorresektion (TURB) eingesetzt. Bei muskelinvasiven Tumoren ist die Zystektomie die Therapie der Wahl. Nach Entfernung der Blase kann die Harnableitung über eine aus einem Darmsegment konstruierte „Neoblase“ oder andere Methoden erfolgen. Bei Lymphknotenmetastasen wird die Operation häufig kombiniert mit Chemotherapie eingesetzt. Die Chemotherapie kann darüber hinaus adjuvant oder neoadjuvant erfolgen. Ziel ist es, neben der Entfernung bzw. Reduzierung des Primärtumors und seiner Lymphknotenmetastasen sowohl lokale Rezidive, als auch die Ausbildung von Fernmetastasen zu verhindern bzw. zu verzögern. Etwa 70% der Harnblasenkarzinome werden in einem frühen Stadium (Tis, Ta, T1) diagnostiziert und sind in ihrer Ausdehnung auf die innersten Schichten ohne

Muskelinvasion beschränkt. Der Tumor kann auch allein durch eine TURB entfernt werden, wobei hierbei jedoch die Tumorrezidivbildung ein Problem darstellt **(28)**. Im Falle der zu den oberflächlich wachsend gerechneten T1G3 Urothelkarzinome hat sich gezeigt, dass eine alleinige TURB in über 40% der Fälle ein Tumorrezidiv und Tumorprogression nicht verhindern kann **(31)**. Durch Zystektomie, Radio- und Chemotherapie können hingegen Komplettremissionen erreicht werden **(49)**. Bei der TURB des Primärtumors stellt es wahrscheinlich ein Problem dar, dass einzelne Tumorzellen vom Primärtumor gelöst werden, die an anderer Stelle anwachsen und so Rezidive bilden können **(25;34)**. Harnblasenkarzinome können außerdem panurethral, d.h. im gesamten Harntrakt beginnend am Rand der Nierenkelche bis hin zur proximalen Harnröhre auftreten. Durch eine alleinige transurethrale Tumorsektion mit Organerhalt können daher nicht immer alle Tumorherde vollständig saniert werden, insbesondere wenn bei einem makroskopisch häufig relativ unauffälligen Carcinoma in situ die Tumorausdehnung nicht erkannt und nicht vollständig reseziert werden kann **(1;17;25)**. Das Auftreten eines Rezidivs geht meist mit einer Steigerung des Malignitätsgrades im Rezidivtumor einher. Es kann daher auch für oberflächliche Karzinome, im Speziellen für Cis-Tumore, eine Zystektomie indiziert sein. Eine Alternative bei solchen Tumoren ist eine TURB in Kombination mit einer adjuvanten Therapie, im Besonderen mit BCG (Bacillus Calmette-Guérin) oder auch Mitomycin. Ziel der BCG-Therapie ist die Nutzung der wirtseigenen Abwehr. Als Nebenwirkungen muss jedoch mit Fieber als Ausdruck einer Infektion des Harntraktes, Grippe-ähnlichen Symptomen und abakterielle Zystitiden in über 88% der Fälle, in Einzelfällen auch mit Pneumonien und Sepsis gerechnet werden **(54)**. Darüber hinaus existieren therapeutische Probleme wie z.B. Resistenz oder Unverträglichkeit, Allergien gegenüber BCG und granulomatösen Endzündungen der Prostata, Nebenhoden, Lunge, Leber und Niere **(48;54)**. In 5% der Fälle kann es nötig werden eine Behandlung aufgrund der Nebenwirkungen abubrechen und eine tuberkulostatische Therapie einzuleiten **(33)**.

Als Alternative oder in Kombination zur chirurgischen Therapie eignen sich des Weiteren die Chemotherapie bzw. die Strahlentherapie **(13;18)**. Die intravesikale Chemoprophylaxe mit z. B. Mitomycin ist per se potentiell karzinogen. Ferner können chemische Zystitiden in bis zu 50% der Fälle, allergische Reaktionen und die Ausbildung einer Schrumpfbhase beobachtet werden. Schwerwiegende Nebenwirkungen der herkömmlichen Chemotherapeutika (Methotrexat, Vinblastin,

Adriamycin, Cisplatin, Epirubicin) wie die Myelosuppression bis hin zum myelodysplastischem Syndrom sind vor allem bei systemischer Therapie muskelinvasiver Harnblasenkarzinome zu beobachten und können zum Therapieabbruch führen. Wegen ihrer Nebenwirkungen bleiben diese nur ausgewählten Patienten mit guter allgemeiner Konstitution vorbehalten **(28)**. Als weitere Chemotherapeutika mit günstigeren Nebenwirkungsprofil werden neuerdings Taxotene beim Harnblasenkarzinom angewandt, wobei in der Klinik bisher aber keine bessere Effektivität gegenüber den klassischen Chemotherapeutika festgestellt werden konnte **(6)**. Die Strahlentherapie ist beim Harnblasenkarzinom mit chronischen Blasenentzündungen, der Gefahr der Ausbildung einer Schrumpfblase oder der Induktion von Sekundärtumoren verbunden **(61)**.

### 1.1.5. Molekularpathologie zur Harnblasenkarzinomentstehung

In Untersuchungen des Harnblasenkarzinoms hat sich gezeigt, dass es bei der Entstehung des Karzinoms zu einer Anhäufung von Defekten in der normalen Zellfunktion durch Transformation einer urothelialen Mutterzelle kommen kann. Diese Defekte betreffen die Zellproliferation, DNA- Reparaturmechanismen, Regulation der Chromosomenstabilität, Zell-Zell- und Zell-Matrix-Interaktion, Angiogenese und Apoptose. Veränderungen in diesen Zellvorgängen haben vermutlich Auswirkung auf die Initiation, Promotion und Progression der Karzinomentstehung **(74)**. Die molekulargenetisch nachgewiesenen Schäden spielen sich je nach Urothelkarzinomtyp an verschiedenen Chromosomen ab. Genetische Veränderungen durch Mutation oder Deletion können zu Aktivierung von im Zusammenhang mit transformierenden Prozessen in Tumoren stehenden Onkogenen oder zur Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen führen. Mutationen auf dem Tumorsuppressor-Gen p53 wurden besonders häufig in CIS und muskelinvasiven Tumoren gegenüber oberflächlich papillären Tumoren beschrieben **(68)**. Bei der Umwandlung vom oberflächlichen zum invasiven Karzinom kommen bei beiden Typen noch zusätzliche genetische Aberrationen hinzu und betreffen Gene auf den kurzen (p) und langen (q) Armen von Chromosomen. Chromosomen sind die im Zellkern sichtbaren Träger der genetischen Information und weisen eine X-förmige Konfiguration auf. Zwei Arme werden



miteinander durch das Zentromer verbunden, wodurch sich jeder Arm in der Regel wiederum in einen kurzen und einen langen Arm unterteilen lässt. Unter Anderem sind Gene auf 11p (Metastasen Suppressor Gen KAI1), 13q (Retinoblastom-Gen, welches die Zellteilung reguliert) , 17p (p53-Tumorsuppressorgen), und auf 18q das DCC-Gen, welches für eine adäquate Zellkohäsion verantwortlich ist, betroffen **(67)**. Die Metastasierung eines Tumors wird vermutlich initiiert, wenn die Tumorzellen diejenigen Gene verlieren, welche Zelladhäsionsmoleküle (Integrine) und die entsprechenden Rezeptoren dafür exprimieren. Die Konsequenz ist ein Kohäsionsverlust des Zellverbandes. Die Zellmotilität wird wahrscheinlich durch Motilitätsfaktoren und Chemokine gesteigert, die durch die Tumorzellen selber sezerniert werden können. Des Weiteren bilden Tumorzellen unter dem Einfluss von Wachstumsfaktoren wie bFGF und TGF-beta Metalloproteinasen, die Basalmembrankollagene aufspalten, und einen Plasminogenaktivator, welcher Kollagen, Laminin und Fibronectin abbauen kann. Mit ihrer Hilfe könnten sich die Tumorzellen aus dem ursprünglichem Zellverband lösen und in Gewebe und Gefäße einbrechen **(62)**.

Ab einer gewissen Größe des Tumors soll zusätzlich die Neovaskularisierung (Angiogenese) eine wesentliche Rolle in der Versorgung und Ernährung der gebildeten Metastase spielen **(64)**. Diese Prozesse könnten bei chirurgischen Interventionen von unterschiedlichsten Faktoren, wie der vermehrten Ausschüttung und Bildung von Interleukinen und Wachstumsfaktoren nach Gewebetrauma und/oder erhöhter Stressreaktion während und nach Operationen beeinflusst werden **(15)**. Klinische Studien konnten belegen, dass es perioperativ zu einer Konzentrationserhöhung von Zytokinen wie IL-6, TNF-alpha und IL-1beta kommt **(73)**.

Bei der TURB des Harnblasenkarzinoms könnte die Tumorzellversprengung unter Manipulation am Primärherd teilweise für das Auftreten von intravesikalen Rezidiven verantwortlich sein **(34)**. Anhand von Untersuchungen an abdominellen Tumoren sollen während chirurgischer Tumorresektion im Besonderen Verletzungen, hier der Peritonealoberfläche, zu einer vermehrten Adhärenz von Tumorzellen und konsekutiv zu einer erhöhten Metastasierung führen **(1;25;64)**. Die erhöhte Adhäsionsbereitschaft von Tumorzellen auf verletztem Peritoneum im Vergleich zu unverletztem Peritoneum wird durch eine vermehrte Expression extrazellulärer Proteine wie Laminin, Fibronectin und Vitronectin auf der Zellmembran erklärt **(16;64)**. Ferner könnten freigesetzte Tumorzellen, wenn sie ins Gefäßsystem gelangen mit dem Körperkreislauf verschleppt werden und als Folge Fernmetastasen auftreten **(25)**.

Nach Stimulation einer Immunantwort durch den operativen Eingriff erhöhen sich die Konzentrationen von Zytokinen, die vermutlich neben Zellen der Immunabwehr auch Tumorzellen in ihrer Proliferation und Aktivität beeinflussen. Als Zytokine, welche Einfluss auf die Proliferation und Adhärenz freier Tumorzellen nehmen, werden IL-1beta, TNF-alpha, IL-6, VEGF und TGF-beta angenommen **(59)**. TGF-beta wird für die Ausbildung von Mikrometastasen verantwortlich gemacht, indem es nach Rezeptorbindung die zytoskeletale Differenzierung beeinflusst **(72)**. Eine Inhibition der IL-1beta Produktion von Peritonealmakrophagen von Ratten führte im Experiment zu einer signifikanten Verminderung des intraperitonealen Tumorwachstums **(37)**.

### 1.1.6. Tiermodelle

Es sind verschiedene Tiermodelle zur Generierung eines Harnblasenkarzinoms in der Literatur beschrieben worden. Durch Verwendung von Chemikalien, welche den Tieren zum Beispiel mit der Nahrung gefüttert wurden, konnten Transitoriazellkarzinome induziert werden. Das Tumorwachstum nimmt jedoch eine sehr lange Zeit, über Monate hinweg in Anspruch. Außerdem zeigt die Inzidenz eines Karzinomes und das Tumorwachstum eine große individuelle Spannweite **(7)**. Als Alternative kann durch lokale Applikation von Säuren in die Blase die Blasenwand geschädigt werden. Die Säure wird danach durch Spülung mit einer Base neutralisiert. Anschließend werden Tumorzellen instilliert, die sich in der Epithelläsion festsetzen können **(40;76)**. Durch dieses Vorgehen reduziert sich die Zeit bis zur Ausbildung eines Karzinoms. Diese geschilderte Methode hat jedoch den Nachteil, dass sie zu multifokalen Läsionen führt. Bei beiden Methoden kommt es zu einer unterschiedlichen Anzahl von Tumorherden, variierenden interindividuellen Lokalisationen und unterschiedlichen histologischen Entwicklungsgraden des Karzinoms **(7;76)**. Ein Tiermodell, das einerseits die Genese eines Harnblasenkarzinomrezidives durch Tumorzellstreuung unter transurethraler Tumorsektion (TURB) gut imitiert und oberflächliche Urothelkarzinome generieren kann, wurde von der Arbeitsgruppe von Bisson et al. entwickelt. Nach dieser Methode wird die Blase der Ratten punktuell über einen Blasenkatheter durch Einbringen eines Drahtes mechanisch verletzt und anschließend über den Katheter mit Tumorzellen gespült **(7)**. Ein sicheres Tiermodell zur Generierung eines Harnblasenkarzinoms stellt

die intramurale Injektion von Tumorzellen in die Harnblasenwand dar, bei welcher durch Applikation kontrollierter, vorher definierter Mengen an Tumorzellen vergleichbare Tumore bei den einzelnen Versuchstieren erzeugt werden können. Hierfür wird zunächst die Blase durch einen Bauchschnitt unter Narkose mobilisiert, anschließend die Blase von außen punktiert und die Tumorzellen in die Tunica muskularis der Harnblase gespritzt **(4)**.

In-vitro Untersuchungen, wie die Testung der Wirksamkeit von Taurolidin auf Urothelkarzinomzellen, sind nur eingeschränkt auf den Menschen übertragbar, da sie die Komplexität der Tumorgenese und Therapie innerhalb des Organismus nicht erfassen **(8;27;40)**. Im Tiermodell sollten jedoch die pathophysiologischen Verhältnisse denen im Menschen weitestgehend entsprechen. Damit der Tumor in seiner natürlichen Umgebung therapiert werden kann, muss der Tumor intravesikal wachsen. Außerdem sollte das Versuchstier immunkompetent sein. Daher müssen Tumorzellen der jeweiligen Spezies zur Implantation verwendet werden, damit die Tiere nicht immunsupprimiert werden müssen, um ein Tumoranwachstum zu erreichen **(76)**. Der orthotope Blasentumor der Ratte ist ein mögliches experimentelles Modell um therapeutische Agentien gegen das Urothelkarzinom auf ihre Wirksamkeit hin zu prüfen. Bisher konnte es benutzt werden um die Wirksamkeit der Therapie mit Bacillus-Calmette-Guérin (BCG) und der photodynamische Therapie mit Photofrin nachzuweisen **(8;27;40)**. Zur Karzinomerzeugung können Tumorzellen der AY-27-Zelllinie Verwendung finden. Diese generieren in Ratten Urothelkarzinome, die mit denen im Menschen eine gute Vergleichbarkeit hinsichtlich ihres Wachstumsverhaltens aufweisen, im Besonderen mit den oberflächlichen Karzinomen. Dieses Modell der Generierung von Harnblasenkarzinomen in Ratten ist in der Literatur beschrieben und allgemein anerkannt **(4;27;40;42;76)**. Daneben existieren auch Versuchsmodelle an Mäusen. Die in ihnen erzeugten Tumore zeigen im Vergleich zur Ratte jedoch weniger Parallelität hinsichtlich Tumoraufbau und Progression zum menschlichen Harnblasenkarzinom **(58)**.

Für experimentelle Untersuchungen ist außerdem unter Umständen die Größe des Versuchstieres in Hinblick auf durchzuführende Techniken wie die Katheterisierung und Medikamentenapplikation ein limitierendes Kriterium, so dass die Ratte zu favorisieren ist **(76)**. Ferner ist eine hohe Anwachsrate von Tumorzellen und Ausbildung eines Karzinoms beim Versuchstier nötig um im Experiment einen Therapieerfolg sicher

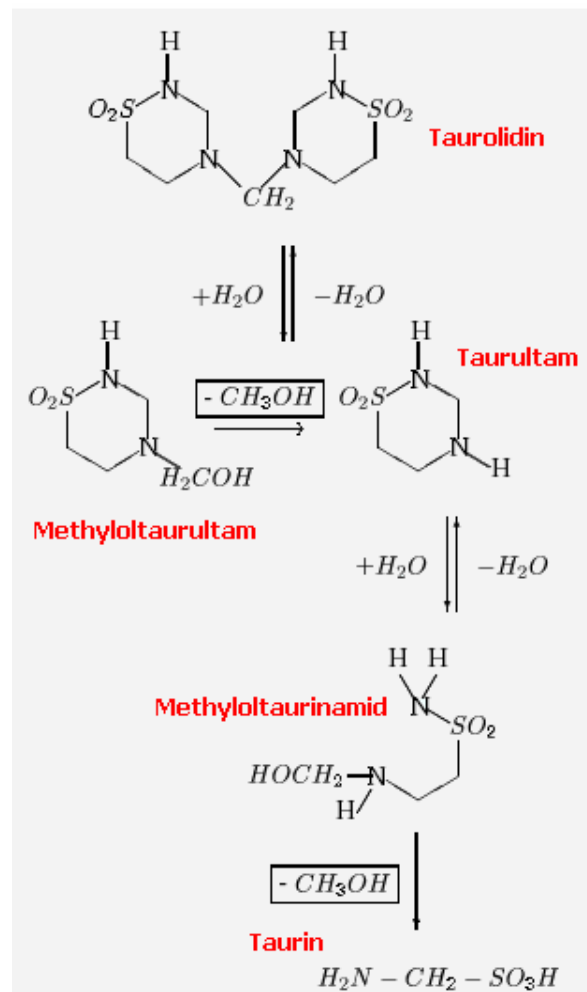
beurteilen zu können. Der Tumor sollte technisch einfach, schnell und mit einer hohen Erfolgsquote zu generieren und zu reproduzieren sein damit möglichst alle im Versuch befindlichen Tiere in die Auswertung mit einbezogen werden können. Der intramuralen Injektion von Tumorzellen in die Harnblasenwand wird in der Literatur diesbezüglich eine nahezu 100%ige Erfolgsquote zur Generierung eines Harnblasenkarzinoms zugeschrieben (4).

## 1.2. Taurolidin

### 1.2.1. Eigenschaften

Taurolidin ist eine Substanz, die vermutlich tumorinhibierende Eigenschaften durch direkte Wirkung auf Tumorzellen, Nutzung der wirtseigenen Abwehrmechanismen und Modulation der Immunantwort mit einem geringen Nebenwirkungsprofil verbindet (35). Es handelt sich um ein Derivat der Aminosäure Taurin [Bis-(1,1-dioxoperhydro-1,2,4-thiazinyl-4) Methan], welches durch enzymatische Hydrolyse unter Freigabe aktiver Methylolgruppen zu Methylol-Taurultam, Taurultam, Methylol-Taurinamid, Taurinamid, Taurin, CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O metabolisiert werden kann (35;66). Bisher wurde Taurolidin als antimikrobielles Chemotherapeutikum zur Behandlung der Sepsis beim Menschen verwendet (35). Weitere routinemäßige Einsatzgebiete für Taurolidin in der Klinik sind z.B. als 2%ige Lösung bei Peritonitiden und in der Traumatologie als Spüllösung zur Behandlung von Infektionen (10;35). Intraperitoneale Instillationen von Taurolidin und seinen Metaboliten sind beim Menschen bis zu 20 Stunden im Kreislauf messbar und könnten auf diesem Wege auch systemische Effekte haben (44). In Tumorzellversuchen und Tierversuchen mit Karzinomzellen wie z.B. des Ovarial-, Kolonkarzinoms, Melanoms und Glioblastoms konnte eine tumorsupprimierende Wirkung nachgewiesen werden (10;14;55;69). Taurolidin ist als niedrig-toxische Substanz einzustufen (35). Je nach Applikationsart und je nach Spezies der untersuchten Versuchstiere (Maus, Ratte, Kaninchen und Miniaturschwein) liegt die LD 50 bei über 1000 mg pro kg Körpergewicht (35). Bei intravenösen Gaben von 1000 ml Taurolidin 2% sind Nebenwirkungen selten (35;44). Übelkeit und vagale Reaktionen können auftreten wenn die Lösung zu rasch oder zu kalt, d.h. unter Körpertemperatur,

verabreicht wird. Es ist bei der Applikation zu berücksichtigen, dass eine Löslichkeitsgrenze von ca. 3% Taurolidin in der Zubereitung nicht überschritten werden kann, so dass Nebenwirkungen ihre Ursache in der verabreichten Flüssigkeitsmenge, fehlenden Isotonie und Euhydrie haben können **(35)**. Nach Applikation sehr hoher Dosen sind für kurze Dauer Symptome wie Konvulsion, Lakrimation, Diarrhöe, Hyperthermie und Sedation nicht auszuschließen, welche jedoch reversibel sind **(35)**. Bei intraperitonealer Gabe ist zu beachten, dass eine lokale Schmerzsensation möglich ist, die durch Kombination mit einem Lokalanästhetikum verhindert werden kann **(35)**. Im Tierexperiment zeigte Taurolidin in den in der Klinik üblichen Dosierung im Gegensatz zu anderen gängigen Chemotherapeutika (z.B. Mitomycin) keine Toxizität auf das Knochenmark noch wurden Leber oder Niere in ihrer Funktion beeinträchtigt **(36)**.



**Abbildung 2:** Taurolidin und die im chemischen Gleichgewicht stehenden Derivate und Abbauprodukte (aus Jacobi et al. <sup>(35)</sup>)

### 1.2.2. Wirkungsweise

Bei der Metabolisierung von Taurolidin entstehen aktive Hydroxymethylgruppen, welche möglicherweise auf Oberflächenrezeptoren übertragen werden und die für die Zelladhäsion notwendigen Rezeptoren blockieren. Somit werden eventuell Adhäsionsvorgänge bei der Tumorzellstreuung verhindert **(26;35)**. Weiterhin ist eine apoptoseinduzierende Wirkung durch Taurolidin beschrieben **(70)**. Apoptose bedeutet, dass Zellen dazu veranlasst werden, durch ein genau festgelegtes Programm ihren eigenen Zelltod zu induzieren **(62)**. Als auslösendes Signal zur Initiierung des programmierten Zelltodes spielt auch hier unter Anderem die Bindung von Signalmolekülen an Oberflächenrezeptoren (z.B. FAS-Proteine, den sogenannten Todesrezeptoren) der Zelle eine Rolle. Eine Verstärkung der FAS-Liganden-induzierten Apoptose durch Taurolidin wird in der Literatur diesbezüglich beschrieben **(70)**. Bei der Zellapoptose soll es als frühes Ereignis zu einer Translokation von Phosphatidylserin, einem Zellmembranbaustein, von der inneren auf die äußere Seite der Plasmamembran der Zelle kommen. Über Markierung von Phosphatidylserin mit Annexin-V, einem Phospholipid bindendem Protein, konnte ferner gezeigt werden, dass die Apoptoseinduktion in Tumorzelllinien durch Taurolidin dosisabhängig ist **(52)**. Zellnekrosen durch Taurolidin treten erst bei Applikation höherer Taurolidinkonzentrationen auf und könnten alle Zellen, unter Umständen auch solche, welche für die Tumorabwehr wichtig wären, betreffen **(35)**. Hingegen ist die apoptoseinduzierende Wirkung durch niedrigere Dosen Taurolidin im Gegensatz zur Zellnekrose durch höhere Dosen Taurolidin für die daraufhin untersuchten Tumorzellen spezifisch, insofern entsprechende normal differenzierte Zellen nach Taurolidininwirkung mit keiner erhöhten Apoptoserate reagieren **(69)**.

In weiteren Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass Taurolidin die Proteinsynthese (Translation) von Zellen hemmt, wodurch eine Apoptose ebenfalls induziert werden könnte **(9)**. Taurolidin vermindert die tumorzelleigene Produktion von TNF-alpha (Tumornekrosefaktor) **(35;66)**. Letzteres fungiert als Signalmolekül, das über intrazelluläre Signalwege die Aktivität von Transkriptionsfaktoren wie NF-KappaB regulieren soll. Wenn weniger TNF-alpha vorhanden ist, liegt weniger NF-KappaB in seiner aktiven Form vor. Letztlich soll dies zu einer verringerten Transkription spezifischer Gene führen, deren Genprodukte Tumorgenese und Inflammation

induzieren und Apoptose der Tumorzellen verhindern **(35)**. Untersuchungen konnten zeigen, dass Taurolidin die Konzentration von NF-KappaB vermindert und eventuell auch auf diesem Weg die Apoptose von Tumorzellen induziert **(35;66)**. Daneben sinkt unter Taurolidineinwirkung die Konzentration von I kappa B (NF-KappaB-Inhibitor), das sich an NF-KappaB anlagert, und dessen Verlagerung in den Zellkern verhindert. Als Konsequenz wäre eigentlich eine Aktivitätssteigerung von NF-KappaB mit einer erhöhten Synthese von Mediatoren, unter Anderem auch TNF-alpha zu erwarten. Im Experiment nahm die Konzentration von TNF-alpha jedoch ab, womit sich außerdem ein Hinweis für eine zusätzlich intrazelluläre, nicht über Oberflächenrezeptoren vermittelte Wirkung von Taurolidin ergeben könnte **(35)**. Die Proliferationsaktivität von Zellen soll auf molekularer Ebene darüber hinaus durch ein Gleichgewicht zwischen dem Tumorsuppressorprotein p53, das die Apoptose reguliert, und dem Transkriptionsfaktor c-Jun gesteuert werden. Durch eine Phosphorylierung von p53, bzw. c-Jun durch eine Kinase wird einerseits der Abbau von p53 beschleunigt, andererseits c-Jun stabilisiert. In vielen Tumorzellen ist das Gleichgewicht zu Lasten des p53 verschoben. Die Konsequenz ist eine verringerte Apoptose und über den c-Jun-Konzentrationsanstieg eine gesteigerte Produktion von VEGF, als eine Voraussetzung für die Tumorangiogenese **(60)**. Im Experiment konnte gezeigt werden, dass Taurolidin die Kinase vermutlich über eine intrazelluläre Wirkung in ihrer Aktivität hemmt **(35)**. Außerdem reduziert Taurolidin die Konzentration von c-Jun und p53 durch Hemmung ihrer Translation, wodurch konsekutiv möglicherweise die Konzentration von VEGF vermindert wird **(9)**. Eine Hemmung der VEGF-Synthese in Tumorzellen durch Taurolidin konnte ebenfalls im Experiment gezeigt werden **(35)**. Die Suppression proinflammatorischer und angiogenetischer Faktoren (IL1-beta, TGF-beta, VEGF und andere) durch Taurolidin stellt an sich einen weiteren Aspekt der suppressiven Wirkung von Taurolidin auf das Tumorwachstum dar. Durch Inkubation mit Taurolidin konnte die Interleukin 1-beta (IL1-beta) Produktion durch Peritonealmakrophagen signifikant reduziert werden **(35)**. Interleukine wie IL1-beta werden von Leukozyten physiologischerweise als Kommunikationsproteine zur Regulation der Immunantwort gebildet. IL1-beta wirkt entzündungsfördernd und als Proliferationsreiz für B-Zellen. Eventuell wird durch eine Stimulation von Fibroblasten zusätzlich die Adhäsion und das Anwachsen metastasierender Tumorzellen gefördert **(35;38)**. In Untersuchungen konnte ferner gezeigt werden, dass IL1-beta in Tumorzellen die Expression von Molekülen fördert, welche bei der Zelladhäsion, Zellinvasion sowie bei der Angiogenese

eine Rolle spielen und so unter Umständen Metastasierungsvorgänge begünstigt werden (77). Daneben wurde für IL1-beta in Untersuchungen eine Stimulation des Tumorwachstums in-vivo gezeigt (14;20;52).

Ein weiterer Aspekt bei der Taurolidinwirkung ist die Hemmung einer Entzündungsreaktion durch Taurolidin. Einerseits induziert Taurolidin Zellapoptose, wobei die betroffenen Zellen von Monozyten/Makrophagen und neutrophilen Granulozyten aufgenommen und lysiert werden. Das Freiwerden von Entzündungsstimulantien wird so verhindert (66). Andererseits zerstört Taurolidin als Bakterizid die Bakterienzellwand. Die Zellwandbestandteile werden aber irreversibel vernetzt, so dass es zu keiner Freisetzung von Toxinen oder pyrogenen Lipopolysaccharide (LPS) kommt, welche als Entzündungsreize fungieren (35;66). Aus experimentellen Studien ist bekannt, dass durch eine vermehrte Ausschüttung von LPS und hierdurch bedingter Zytokinausschüttung während operativer Eingriffe das Wachstum von malignen Zellen stimuliert werden könnte (59). Bedrosian et al. konnten trotz Stimulation von Monozyten mit LPS eine TNF-alpha und IL-1beta Freisetzung unter Taurolidingabe verhindern (5). LPS wird physiologischerweise durch Bindung an einen Rezeptor auf der Oberfläche von Monozyten (Toll-like-Rezeptor) erkannt und führt über eine intrazelluläre Signalkaskade zur Synthese pro-inflammatorischer Zytokine und Auslösung einer Entzündungsreaktion. Auch der Taurolidinmetabolit Taurin, welcher im menschlichen Körper zu Taurin-Chloramid (Tau-C1) umgewandelt wird, soll eine antientzündliche Wirkung durch Hemmung der Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen aufweisen. Die Ausschüttung von IL-6 und IL-8 aus menschlichen Monozyten sowie die IL-2 Produktion in Leukozyten, das bei der Aktivierung und Proliferation von T-Lymphozyten eine Rolle spielt, konnten durch Tau-C1 verringert werden. Zusätzlich soll Tau-C1 die Aktivierung und Migration in den Zellkern von NF-KappaB hemmen (66).



### 1.2.3. Experimentelle Erfahrungen mit Taurolidin

Die antiadhärente und antiproliferative Wirkung von Taurolidin auf Mikroorganismen konnte in Experimenten gezeigt werden **(9;26;37)**. In Tumorzellversuchen mit Karzinomzellen wie z.B. des Ovarial-, Pankreas-, Kolonkarzinoms, Melanoms und Glioblastoms wurde außerdem eine tumorsupprimierende Wirkung durch Taurolidin nachgewiesen **(10;14;55;69)**. Für Glioblastomzellen konnte gezeigt werden, dass Taurolidin bei ihnen selektiv, im Gegensatz zu normal differenzierten Zellen des entsprechenden Gewebes, Apoptose induziert **(70)**. Die Hemmung des Tumorwachstums durch Taurolidin konnte in tierexperimentellen Studien bestätigt werden **(5;37)**. Braumann et al. war es möglich, durch intraperitoneale Taurolidinapplikation das Wachstum intraperitonealer Tumoren zu inhibieren **(10)**. Lokal in das Peritoneum instillierte Lösungen werden jedoch in der Regel resorbiert und könnten hierdurch systemisch wirksam werden **(44)**. Es ist daher denkbar, dass Taurolidin bei einer Applikation lokal im Abdomen hauptsächlich systemisch wirkt und hierdurch das Tumorwachstum hemmt **(35)**. Braumann et al. konnte im Tierversuch diesbezüglich einen isoliert systemischen Effekt auf das Tumorwachstum durch intravenöse (systemische) Gabe von Taurolidin feststellen **(9;10)**.

### 1.2.4. Klinische Erfahrungen mit Taurolidin

In der Klinik wird Taurolidin bereits routinemäßig bei Peritonitiden als 2% Lösung eingesetzt und seit den 80er Jahren in der Traumatologie als Spüllösung zur Behandlung von Infektionen **(10;35)**. Wegen des jahrelangen klinischen Einsatzes und des geringen Nebenwirkungsprofils findet Taurolidin in einzelnen Fällen bereits zur Prophylaxe von Tumormetastasen, möglicherweise durch antiadhärente bzw. antiproliferative Wirkung auf freie Tumorzellen, Anwendung. Auch in der Tumorthherapie wird Taurolidin lokal oder systemisch eingesetzt, z.B. als intraperitoneale und intravenöse Applikation beim malignem Melanom **(35)**. Beim Menschen sind ebenfalls eingeschränkte Therapieerfolge bei der primär systemischen Therapie als Mono- oder Kombinationstherapie bei metastasierten Karzinomen und dem Glioblastom beschrieben. Unter systemischer Taurolidin-Therapie kam es zu einer Tumorregression

oder sogar einer vollständigen Remission **(10;35;69)**. Es handelt sich jedoch um Einzelfälle, welche einer anderen Chemotherapie nicht zugänglich waren oder Progression unter herkömmlicher Chemotherapie aufwiesen **(35)**. Bisher existiert kein einheitliches Behandlungsschema in Bezug auf Applikationsart, Anwendungsdauer, Dosierung und Gesamtdosis. Des Weiteren ist bis dato ungeklärt, ob Taurolidin in den bisher erzielten Plasmakonzentrationen nicht nur auf Tumorzellen sondern auch auf normal differenzierte Zellen zytotoxisch wirksam ist und unerwünschte Nebenwirkungen nach längerer Zeit zunehmen können **(5;9;35)**.