

Aus dem Zentrum für klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Univ.-Prof. Dr. R. Köstlin

angefertigt an der urologischen Klinik und Poliklinik der
Ludwig-Maximilians-Universität München
(Prof. Dr. C. Stief)

und dem Laser-Forschungslabor der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Dr. R. Sroka)

Untersuchung zur Wundheilungsmodulation durch lokal integrierte Betastrahler am Harnröhrenstrikturmodell des Kaninchens

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Ricarda Becker
aus Achim

München, 2011

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichterstatter:	Univ.-Prof. Dr. Köstlin
Korreferent/en:	Univ.-Prof. Dr. Hermanns

Tag der Promotion: 30. Juli 2011

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	SCHRIFTUM	3
1.	Harnröhrenstrikturen.....	3
1.1.	Definition	3
1.2.	Vergleichende Anatomie der Harnröhre	3
1.2.1.	Makroskopische Anatomie.....	3
1.2.1.1.	Die Anatomie der Urethra des Mannes	3
1.2.1.2.	Die Anatomie der Urethra des männlichen Kaninchens	5
1.2.2.	Mikroskopische Anatomie	7
1.2.2.1.	Der histologische Aufbau der männlichen Urethra.....	7
1.2.2.2.	Der histologische Aufbau der Urethra des Kaninchens	7
1.3.	Ätiologie der humanen Harnröhrenstrikturen	7
1.3.1.	Angeborene Ursachen	8
1.3.2.	Traumatische Ursachen	9
1.3.3.	Entzündliche Ursachen.....	10
1.4.	Symptomatik	10
1.5.	Diagnostik	11
2.	Die Wundheilung der Harnröhre	13
2.1.	Die Phasen der Wundheilung.....	13
2.2.	Die Pathogenese der Harnröhrenstriktur	14
2.3.	Die Myofibroblasten	16
3.	Historischer Überblick zur Therapie der Harnröhrenstrikturen	19
4.	Therapieformen der Harnröhrenstrikturen.....	20
4.1.	Dilatation der Harnröhrenstrikturen	21
4.1.1.	Die Urethrotomia interna nach Sachse.....	22
4.1.2.	Die Urethrotomia interna – Laserverfahren	24
4.1.2.1.	Diodenlaser.....	25
4.2.	Die Urethroplastik	25
4.3.	Harnröhrenstents	26
4.3.1.	Geschichte der Harnröhrenstents	27
4.3.2.	Klinische Erfahrungen mit Stents in der Urologie	27

4.4.	Tissue Engineering und experimentelle Therapieansätze zur Therapie der Harnröhrenstriktur im Tiermodell.....	28
4.5.	Bevorzugte Therapiemöglichkeiten der urethralen Strikturen	29
5.	Radioaktive Bestrahlung	30
5.1.	Strahlentherapie allgemein.....	30
5.2.	Brachytherapie	30
5.3.	Radioaktivität und dessen Zellwirkung auf benigne Erkrankungen	32
5.4.	Beta-Strahler.....	35
5.5.	Phosphor -32	36
5.6.	Strahlentherapie in der Behandlung der Koronarstenose.....	37
5.7.	Strahlentherapie zur Behandlung der Harnröhrenstrikturen	37
6.	Nebenwirkungen der Strahlentherapie.....	39
6.1.	Strahlenfibrose	40
7.	Das Strikturinduktionsmodell der Urethra	40
III.	MATERIAL UND METHODEN	42
1.	Zielsetzung und Problemstellung.....	42
2.	Das „BetaMod-Projekt“ – ein interdisziplinäres Forschungsprojekt.	43
3.	Untersuchsgut.....	43
3.1.	Die Wahl des Kaninchens als Versuchstier.....	43
3.2.	Versuchstiere und Haltungsbedingungen.....	44
3.3.	Studiendesign	44
4.	Die „De novo Gruppe“.....	45
5.	Radiotherapie von Normalgewebe (Urethra)	46
6.	Versuchsvorbereitung.....	46
6.1.	Der radioaktive Stent.....	46
6.1.1.	Die Dosisverteilung im Zielvolumen	49
6.2.	Strikturinduktionsmodell.....	50
7.	Versuchsdurchführung.....	52
7.1.	Anästhesie und Operationsvorbereitung	52
7.1.1.	Postoperative Versorgung	56
7.2.	Operatives Vorgehen.....	56

7.2.1.	Tag 0 - Strikturinduktion.....	56
7.2.2.	Tag 28 - Urethrotomia interna nach Sachse und Kathetereinlage.....	60
7.2.3.	Tag 28 bis Tag 35 - Phase der Kathetereinlage.....	65
7.2.4.	Tag 35 - Katheterentfernung	65
7.2.5.	Tag 63 - Euthanasie.....	66
7.2.6.	Gewebeentnahme	67
8.	Herstellen und Aufbereiten der Präparate	67
8.1.	Hämatoxylin-Eosin Färbung (HE-Färbung)	69
8.2.	Elastika-van-Gieson Färbung (EvG-Färbung)	69
8.3.	Immunhistochemische Färbungen (α - SMA-Färbung)	70
9.	Auswertung	70
9.1.	Histomorphometrische Auswertung.....	70
9.2.	Histopathologische Auswertung	73
9.3.	Auswertung der Röntgen- bzw. Endoskopiedaten	77
9.4.	Statistische Auswertung	80
IV.	ERGEBNISSE	82
1.	Überlebensrate.....	82
2.	Klinische Untersuchung der Tiere.....	82
3.	Laserdaten Tag 0.....	82
4.	Operationsdauer.....	82
5.	Ergebnisse der röntgenologischen und endoskopischen Auswertung.	83
5.1.	Vergleich der Messmethoden des Strikturgrades.....	83
5.1.1.	Übereinstimmung der Verfahren (Endoskopisch – Röntgenologisch)	84
5.1.2.	Übereinstimmung der Verfahren (Endoskopisch – Metrisch)	85
5.1.3.	Übereinstimmung der Verfahren (Metrisch – Röntgenologisch).....	86
5.1.4.	Schlussfolgerung des Vergleichs der Messmethoden	86
5.2.	Reproduzierbarkeit der Lokalisation der Stenoseposition	87
5.3.	Ergebnis der Strikturinduktion	89
5.4.	Stenosegrad Tag 28	90
5.5.	Stenosegrad Tag 63	91
5.6.	Entwicklung des Stenosegrades (Tag 28-Tag 63).....	91
5.7.	Entwicklung des Stenosegrades (Tag 28 bis Tag 63) in Abhängigkeit von	

	der Dosis (Gy)	92
6.	Ergebnisse der histologischen Auswertung.....	93
6.1.	Histomorphometrische Ergebnisse.....	93
6.1.1.	Minimum und Maximum der Epitheldicke (μm).....	94
6.1.1.1.	Epitheldicke-Minimum (μm) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy).....	94
6.1.1.2.	Epitheldicke-Maximum (μm) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy).....	94
6.1.1.3.	Epitheldicke-Minimum (μm) in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63).....	95
6.1.1.4.	Epitheldicke-Maximum (μm) in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63) ..	96
6.1.2.	Umfang und Fläche des Lumens in (mm/mm^2)	97
6.1.2.1.	Lumenumfang (mm) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy).....	97
6.1.2.2.	Lumenfläche (mm^2) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)	98
6.1.2.3.	Lumenumfang (mm) in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63).....	99
6.1.2.4.	Lumenfläche (mm^2) in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63)	100
6.1.3.	Minimum und Maximum der Bindegewebedicke (mm).....	101
6.1.3.1.	Bindegewebedicke-Minimum (mm) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)....	101
6.1.3.2.	Bindegewebedicke-Maximum (mm) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)...	102
6.1.3.3.	Bindegewebedicke-Minimum (mm) in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63)	103
6.1.3.4.	Bindegewebedicke-Maximum (mm) in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63)	104
6.1.3.5.	Bindegewebebefläche (mm^2) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy).....	105
6.1.3.6.	Bindegewebebefläche (mm^2) in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63).....	106
6.2.	Histopathologische Ergebnisse	107
6.2.1.	Entzündung im Urothel	107
6.2.1.1.	Entzündung im Urothel in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)	107
6.2.1.2.	Entzündung im Urothel in Abhängigkeit vom Stenosegrad Tag 63	108
6.2.2.	Entzündung im Bindegewebe.....	109
6.2.2.1.	Entzündung im Bindegewebe in Abhängigkeit von der Dosis (Gy).....	110
6.2.2.2.	Entzündung im Bindegewebe in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63) ..	110

6.2.3.	Histopathologische Veränderungen am Urothel	111
6.2.4.	α -SMA-Färbung	113
6.2.4.1.	α -SMA-Färbung in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)	113
6.2.4.2.	α -SMA-Färbung in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63).....	114
6.2.5.	Fibrosegrad.....	115
6.2.5.1.	Fibrosegrad in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)	116
6.2.5.2.	Fibrosegrad in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63)	117
6.2.6.	Strahlenschaden.....	118
6.3.	Korrelation der Ergebnisse.....	119
6.3.1.	Korrelation zwischen dem Stenosegrad (Tag 63) und den Dosis-Gruppen (Gy)	119
6.3.2.	Korrelation zwischen dem Stenosegrad (Tag 63) und der Entzündung im Urothel.....	119
6.3.3.	Korrelation zwischen dem Stenosegrad Tag (Tag 63) und der Entzündung im Bindegewebe	119
6.3.4.	Korrelation zwischen dem Stenosegrad (Tag 63) und dem α -SMA Grad	119
6.3.5.	Korrelation zwischen dem Stenosegrad (Tag 63) und dem Fibrosegrad	120
6.3.6.	Korrelation zwischen dem Stenosegrad (Tag 63) und dem Umfang des Urothels	121
6.3.7.	Korrelation zwischen den Dosis-Gruppen (Gy) und dem Umfang des Urothels	122
6.3.8.	Korrelation zwischen den Dosis-Gruppen (Gy) und der Entzündung im Urothel.....	122
6.3.9.	Korrelation zwischen den Dosis-Gruppen (Gy) und der Entzündung im Bindegewebe	122
6.3.10.	Korrelation zwischen den Dosis-Gruppen (Gy) und dem α -SMA-Grad	123
6.3.11.	Korrelation zwischen den Dosis-Gruppen (Gy) und dem Fibrosegrad....	124
6.3.12.	Korrelation zwischen der Bindegewebebläche und den Dosis-Gruppen (Gy)	124
6.3.13.	Korrelation zwischen der Bindegewebebläche und dem Stenosegrad (Tag 63).....	124
7.	Vorläufige Ergebnisse der „De novo“- Gruppe	124
8.	Ergebnisse der Radiotherapie von Normalgewebe	125

V.	DISKUSSION	127
1.	Diskussion der statistischen Auswertung.....	127
2.	Diskussion der Versuchsdurchführung.....	127
2.1.	Diskussion des Tiermodells	127
2.2.	Diskussion der OP-technischen Probleme	128
2.3.	Diskussion der Implantatanwendung	131
3.	Diskussion der Aufbereitung und Herstellung der histologischen Präparate.....	131
4.	Diskussion der Messmethoden	132
4.1.	Messmethoden der histologischen Präparate	132
4.2.	Messmethoden des Strikturgrades.....	133
4.3.	Messmethoden der Stenoselokalisierung	135
5.	Diskussion der Ergebnisse	137
5.1.	Diskussion der Strikturinduktion	137
5.2.	Diskussion der Stenosegrade – Gray.....	138
5.2.1.	Diskussion der Tiere mit dem besten Therapieerfolg	139
5.2.2.	Diskussion der Tiere mit geringgradigen Strikturen am Tag 28.....	140
5.3.	Diskussion der histologischen Ergebnisse	141
5.3.1.	Diskussion der histologischen Ergebnisse in Bezug auf die Epitheldicke und Veränderungen am Epithel.....	141
5.3.2.	Diskussion der histologischen Ergebnisse der Fläche und des Umfangs des Lumens und des Bindegewebes	142
5.3.3.	Diskussion der Ergebnisse der α -SMA-Färbung.....	145
5.3.4.	Diskussion der Ergebnisse der entzündlichen Veränderungen in der histologischen Untersuchung	149
5.3.5.	Diskussion der Fibrosegrade	150
5.4.	Diskussion der Radiotherapie von Normalgewebe	152
5.5.	Diskussion der LDR-Brachytherapie zur Therapie von urethralen Strikturen.....	153
5.6.	Diskussion des Target der Bestrahlung.....	156
6.	Schlussfolgerung und Ausblick.....	156
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	158

VII.	SUMMARY.....	160
VIII.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	162
IX.	ANHANG	164
X.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	166
XI.	TABELLENVERZEICHNIS.....	169
XII.	DIAGRAMMVERZEICHNIS.....	171
XIII.	LITERATURVERZEICHNIS.....	173
XIV.	DANKSAGUNG	192

I. EINLEITUNG

Harnröhrenstrikturen (ringförmige Narben der Harnröhre) stellen in der Urologie nach wie vor ein schwer zu behandelndes Krankheitsbild dar. Meist handelt es sich um Patienten mittleren bis fortgeschrittenen Alters, die infolge eines endourologischen Eingriffes oder einer Katheterisierung eine Striktur erworben haben. Leider kann mit keinem der bisher angewandten Therapieverfahren auf Dauer ein Erfolg erzielt werden. So konnte gezeigt werden, dass die Urethrotomia interna, welche den Goldstandard darstellt, in Langzeitstudien bei weniger als 50 % der Patienten erfolgreich bleibt und es erneut zu Strikturrezidiven kommt (Weidlich et al., 2007, Pansadoro and Emiliozzi, 1998, Niesel et al., 1995, Albers et al., 1996). Auch bei Patienten nach transurethraler Prostataresektion oder einer radikalen Prostatektomie sind die Folgen einer Anastomosenstriktur auf Höhe des Blasenhalses mit schweren Komplikationen verbunden (Kröpfl et al., 2004). Eine erfolgversprechende Therapie vor allem bei bereits eingetretenen Rezidiven ist, abgesehen von der offenen Harnröhrenrekonstruktion, nicht bekannt.

Im Rahmen dieser Studie soll ein innovativer Ansatz zur Behandlung der Harnröhrenstriktur entwickelt und gleichzeitig ein neues Tiermodell für Strikturen der hinteren Harnröhre evaluiert werden. Neben der konventionellen Therapieform (Urethrotomia interna nach Sachse) soll zusätzlich ein radioaktiver Strahler (Phosphor-32) in Form eines folienbeschichteten Katheters zum Einsatz kommen.

Die strahlentherapeutische Low-Dose-Rate-Brachytherapie (LDR), wie sie auch bei der Behandlung gutartiger und entzündlicher Erkrankungen eingesetzt wird, soll postoperativ die Wundheilung in den ersten Tagen beeinflussen und die Ausbildung von Narbengewebe verhindern (Seegenschmiedt et al., 2000, Rodemann, 2006, Trott, 1994).

Bisher liegen keine Studien zur LDR-Brachytherapie an der Harnröhre zur Rezidivprophylaxe vor. Die vorliegende Studie ist Teil eines interdisziplinären Forschungsprojekts zur Evaluierung der LDR-Brachytherapie bei Stenosen röhrenförmiger Organe und dient als Basisforschung für eine klinische Studie am Menschen (BetaMod-Projekt).

Die gesamten Untersuchungen wurden von der Bayerischen Forschungsförderung

gefördert und unter dem Aktenzeichen 712/06 durchgeführt.

II. SCHRIFTUM

1. Harnröhrenstrikturen

1.1. Definition

Eine Verengung der Harnröhre wird als Harnröhrenstriktur oder Harnröhrenstenose bezeichnet (lat. *strictura* „das Zusammenziehen, die Verengung“, griechisch *στένωση, sténosi*, „Verengung“ von *στενός, stenós*, „eng“). Die Begriffe Striktur oder Stenose werden unabhängig vom Ausmaß, der Lokalisation und der Genese verwendet.

1.2. Vergleichende Anatomie der Harnröhre

Die Anatomie der Harnröhre des Mannes und des männlichen Kaninchens werden im Folgenden miteinander verglichen.

1.2.1. Makroskopische Anatomie

1.2.1.1. Die Anatomie der Urethra des Mannes

Die männliche Harnröhre (*Urethra masculina*) reicht von der Mündung der Harnblase in die Harnröhre (*Ostium urethrae internum*) bis zum Ende der Harnröhre auf der Glans penis (*Ostium urethrae externum*) (Moll and Moll, 2006).

Die Urethra des Mannes hat eine Länge von 20-25 cm mit individuell unterschiedlichen Durchmessern (Rödler et al., 2006). Die durchschnittliche Weite der männlichen Urethra beträgt 7-9 mm, das entspricht 21-27 Charrière (Charr.) bzw. French (FR) (Hofmann, 2005). Ein Charrière entspricht 1/3 mm. Der Durchmesser der Harnröhre ist einerseits abhängig vom Alter, andererseits vom jeweiligen Abschnitt der Urethra (Heitz et al., 1998).

Die Harnröhre lässt sich in drei Abschnitte unterteilt. *Die Pars prostatica, die Pars membranacea* und *die Pars spongiosa*. Zudem durchsetzt die *Pars intramuralis* den proximalen Teil der Harnblasenwand (Rohen, 2000).

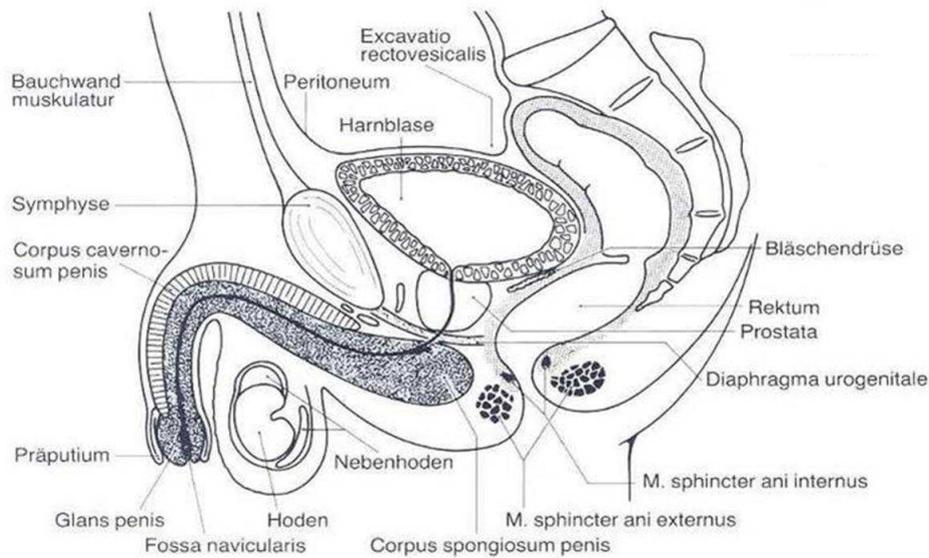


Abbildung 1: Anatomie der Harnröhre (Urologie für die Praxis, A.G. Hofstetter, F. Eisenberger, Springer Verlag, 1996, S.20, gedruckt mit der freundlichen Genehmigung des Springer Verlags)

- ***Pars intramuralis***: durchsetzt die Harnblasenwand
- ***Pars prostatica*** (3-3,5 cm): Blasenhals bis Ausführungsgang der Prostata/Samenwege am *Colliculus seminalis*
- ***Pars membranacea*** (wenige mm): Distal der Prostata bis zum Beckenboden
- ***Pars spongiosa*** (20-25 cm): Beckenboden bis zum *Meatus urethrae externus* (Bulbäre Urethra •Penile Urethra •*Fossa navicularis*)

Die Urethra zeigt im Querschnitt eine unterschiedliche Lage in Bezug auf den Schwellkörper (*Corpus spongiosum penis*). Im penilen Teil verläuft die Harnröhre zentral im *Corpus spongiosum*. Im bulbären Teil ist der Verlauf mehr dorsal und exzentrisch. Der Verlauf bzw. die Lage der Urethra in den einzelnen Abschnitten ist wichtig für die Entwicklung verschiedener Operationstechniken. Der Mann hat neben dem Harnröhrenschwellkörper noch das *Corpus cavernosum penis* und das *Corpus spongiosum glandis* (Heitz et al., 1998).

Die tubulären Drüsen der Harnröhre (Cowper-Drüsen, Littre-Drüsen, Morgagni-Drüsen) können bei der Entwicklung der Harnröhrenstriktur eine Rolle spielen. Nach chronischen Entzündungen der Harnröhre unter Mitbeteiligung der Drüsen kann es zur Vernarbung und Fibrosierung des periurethralen Gewebes kommen (Heitz et al., 1998).

Die Cowper-Drüsen (*Glandulae bulbourethrales*) münden im Bereich der *Ampulla urethrae*. Die kleineren Littre-Drüsen münden in der *Pars membranacea* und der *Pars spongiosa*. Die Muskulatur der Harnröhre besteht aus einem äußeren und einem inneren Schließmuskel, welche am Blasengrund und am diaphragmatalen Durchtritt der Harnröhre zu finden sind. Der *M. sphincter internus* oder *M. sphincter vesicae* ist ein glatter Muskel, wohingegen der *M. sphincter externus* ein quergestreifter Muskel ist. Neben dem quergestreiften Muskel gibt es zusätzlich einen glatten autonomen Muskel, den *M. sphincter externus glaber*. Der *M. dilatator urethrae* und der *M. ejaculatorius* bestehen aus längs angeordneten glatten Muskelbündeln (Rohen, 2000).

Die Urethra besitzt anatomisch zwei Krümmungen, die *Curvatura infra* - und *praepubica*. Die *Curvatura infrapubica* geht von der *Pars membranacea* bis zur *Pars spongiosa* und die *Curvatura praepubica* liegt zwischen dem proximalen und distalen Ende der *Pars spongiosa*. Diese müssen bei der Katheterisierung berücksichtigt werden. Die erste praepubische Krümmung kann durch das Anheben des Penis beim Vorführen des Katheters ausgeglichen werden. Beim weiteren Vorführen des Katheters durch das *Diaphragma urogenitale* kann dies nicht geschehen, daher haben Harnkatheter vielfach eine abgerundete Form an ihrem distalen Ende (Moll and Moll, 2006, Rohen, 2000).

Physiologisch bilden der *M. sphincter externus* im Bereich der *Pars membranacea*, das *Ostium urethrae internum* und das *Ostium urethrae externum* drei Engstellen an der Urethra. Die *Pars membranacea* hat den geringsten Durchmesser. Die *Fossa navicularis*, die *Pars prostatica* und die *Ampulla urethrae* am distalen Ende der *Pars spongiosa* bilden hingegen die weitesten Stellen der Urethra (Moll and Moll, 2006).

1.2.1.2. Die Anatomie der Urethra des männlichen Kaninchens

Beim männlichen Kaninchen unterteilt man die Urethra in die *Pars pelvina* (*Ostium urethrae internum* – Beckenboden) und die Pars penina (Beckenboden - *Ostium urethrae externum*). Die *Pars pelvina* wird in die *Pars paeprostata*, die *Pars prostatica* und der *Pars membranacea* unterteilt. Das Beckenstück der Harnröhre wird vom quergestreiften *M. urethralis* umfasst. Der Kaninchenbock besitzt im Gegensatz zu anderen Haussäugetieren keinen Penisknochen (Nickel et al., 2004).

Eine Besonderheit beim Kaninchen ist eine unpaare, längliche blasenähnliche Struktur dorsal der Harnblase. Bereits 1664 wird das Organ erstmals in der Literatur erwähnt. Seitdem sind mehrere Begriffe geläufig. Swoboda zählt in seiner Studie über den *Utriculus masculinus* 1929 bereits mehrere Synonyme für das Organ auf: *Vesicula prostatica*, *Utriculus masculinus*, *Vagina masculina*, *Sinus prostaticus Morgagni*, *Vesicula spermatica spuria* (Swoboda, 1929).

Sie besitzt zwei seitliche Ausstülpungen, die einem Uterus ähnlich sehen. Der Ursprung dieses Organs wird seit Langem in der Literatur kontrovers diskutiert. Embryonal sind bei beiden Geschlechtern die Anlagen für den weiblichen und den männlichen Geschlechtsstrakt angelegt. Anfänglich ging man davon aus, dass diese Struktur aus den Geweberesten der Müllerschen Gänge hervorgeht. Glenister et al. postulieren 1962, dass dieses Organ eine Kombination aus dem *Sinus urogenitalis*, Wolffschen Gängen und Überresten der Müllerschen Gänge darstellt (Glenister, 1962). Im Aufbau entspricht das Organ eher dem Uterus des weiblichen Tieres (Müllersche Gänge), aber entwicklungsgeschichtlich kann man das Organ auch für eine unpaare *Vesicula seminalis*, eine Erweiterung und Verschmelzung der Wolffschen Gänge ansehen. Zudem enthält der *Utriculus masculinus* des Kaninchens Sperma und dient womöglich als Samenreservoir (Krause, 1884). In der neueren Literatur wird das Organ als Samenblasendrüse, eine akzessorische Geschlechtsdrüse, bezeichnet (O'Malley, 2008).

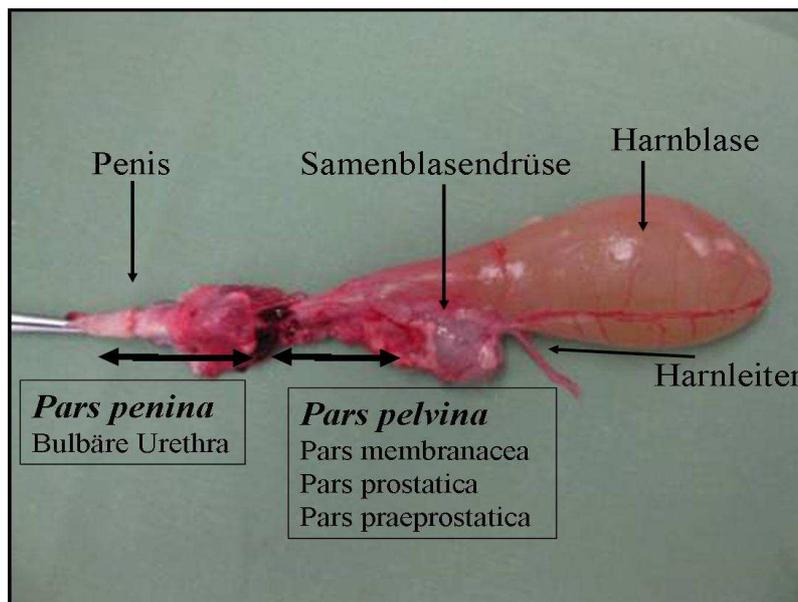


Abbildung 2. Harntrakt eines männlichen Kaninchens

1.2.2. Mikroskopische Anatomie

1.2.2.1. Der histologische Aufbau der männlichen Urethra

Die Harnröhre wird unterteilt in die *Tunica mucosa*, die *Tunica muscularis* und die *Tunica adventitia*. Die *Tunica mucosa* besteht aus dem Urothel, der Epithelschicht der Harnröhre und der *Lamina propria*, der Bindegewebeschicht unterhalb des Urothels. Das Urothel und die *Lamina propria* sind durch eine Basalmembran voneinander getrennt. Die Harnröhre des Mannes ist mit einem mehrreihigen, teilweise mehrschichtigen iso- bis hochprismatischen Epithel ausgekleidet. In Richtung Blase liegt das Urothel als Übergangsepithel vor, in Richtung Penis geht das Epithel in ein mehrschichtiges unverhorntes Plattenepithel über. Je nach Füllungszustand ist die Schleimhaut der Urethra in Längsfalten (*Lacunae urethrales*) gelegt. Bei Füllung mit Urin können diese verstreichen. Die *Lamina propria* enthält zahlreiche elastische Fasergeflechte, Drüsengewebe und Venenplexus. Die glatte Muskulatur der Harnröhre besteht aus inneren Längsbündeln und äußeren zirkulären Muskelanteilen (Hees, 2000).

1.2.2.2. Der histologische Aufbau der Urethra des Kaninchens

Die Urethra der männlichen Tiere ist überwiegend mit einem Übergangsepithel ausgekleidet. An vereinzelt Stellen kann aber auch ein einfach oder mehrfach geschichtetes hochprismatisches Epithel vorhanden sein. In Richtung *Glans penis* tritt, wie beim Menschen, ein mehrschichtiges Plattenepithel auf (Liebich, 2004).

1.3. Ätiologie der humanen Harnröhrenstrikturen

Aufgrund der Lage und der geringen Länge der weiblichen Harnröhre sind Harnröhrenstrikturen bei Frauen eher ungewöhnlich (Hofmann, 2005). Häufiger treten sie beim männlichen Geschlecht auf. In der Literatur wird die Harnröhre in Bezug auf die Lokalisation der Harnröhrenstriktur in 2 Abschnitte untergliedert. In den vorderen Teil (*anterior urethral strictures*) und den hinteren Teil (*posterior urethral strictures*). Der vordere Teil ist vom *Corpus spongiosum* umgeben, daher auch als *Pars spongiosa* bezeichnet. Der hintere Teil beinhaltet die *Pars membranacea* und die *Pars prostatica* (Barbagli et al., 2003). Aufgrund der unterschiedlichen Operationstechniken für die verschiedenen Abschnitte ist diese Einteilung sinnvoll.

Harnröhrenstrikturen können angeboren oder erworben sein. Den erworbenen

Strikturen liegt entweder eine entzündliche oder eine traumatische Genese zugrunde. Lumen et al. (2009) haben an einer Studie mit 268 männlichen Patienten (mittleres Alter 47,7 Jahre) 13 Gründe für die Entstehung einer Striktur der Urethra festgelegt. Die Hauptursachen in dieser Studie waren mit 29,9% idiopathischer Natur, 19,4% nach TUR (transurethrale Resektion), 11,2% nach urethraler Katheterisierung, 11,2% nach Beckentrauma und 9,7% nach Hypospadie-Korrektur.

Die meisten anterioren Strikturen sind idiopathischer oder iatrogener Natur (Fenton et al., 2005).

Je nach Lokalisation der Striktur kommen verschiedene Ursachen in Frage. Jedes Trauma der Urethra kann zu einer Harnröhrenstriktur führen, wobei die Lokalisation in direktem Zusammenhang mit der Ursache steht. Für den adulten Patienten werden Verengungen der Harnröhre unter 16 Charr. symptomatisch (Stack and Schlossberg, 1998).

1.3.1. Angeborene Ursachen

Angeborene Strikturen sind eher selten und kommen hauptsächlich im vorderen Teil der Urethra vor. Meist sind sie mit weiteren angeborenen Defekten, wie zum Beispiel einer *Hypospadie*, vergesellschaftet. Bei fehlender Rückbildung der distalen Urethralmembran kann es zu einer Meatusstenose kommen. Diese Verengungen können auch im Zusammenhang einer *Phimose* am *Orificium externum* oder im Bereich der *Fossa navicularis* auftreten (Rödder et al., 2006).

Harnröhrenklappen können auch eine Obstruktion der Harnröhre verursachen. Vor allem posteriore Harnröhrenklappen werden bei männlichen Neugeborenen häufiger als anteriore beobachtet (Freyschmidt, 2004).

Die hinteren Harnröhrenklappen werden nach Young in drei Typen (Typ 1-3) eingeteilt, wobei der Typ 3 die höchste klinische Relevanz hat (Schleimhautsegel vom *Colliculus seminalis* zu den vorderen Abschnitten der infracolliculären Urethra). Durch diese Verengungen kommt es zu pathologischen Druckverhältnissen im Harntrakt, was aber durch eine frühzeitige sonographische Untersuchung der Harnröhre des Neugeborenen erkannt und beseitigt werden kann (Young et al., 2002).

Eine weitere Missbildung der Harnröhre ist die bulbäre Ringstenose. Sie entsteht

durch die persistierende Verbindung der endodermalen (primären) Urethra mit der ektodermalen sekundären Urethra (Mori et al., 1989).

1.3.2. Traumatische Ursachen

Traumatische Ursachen lassen sich in iatrogene und nicht iatrogene Ursachen untergliedern. Seit Beginn der transurethralen Behandlung verschiedenster Krankheitsbilder steigt auch das Risiko für Verletzungen der Harnröhre.

Gozzi et al. (2008) gehen davon aus, dass circa 30% aller traumatisch verursachten Strikturen eine Folge von transurethralen Eingriffen jeglicher Art sind. Zudem stellen sie fest, dass bei 35% der Strikturen keine Ursache genannt werden kann. Dies sind die sogenannten idiopathischen Strikturen. Eine genaue Anamnese bei Vorstellung des Patienten ist daher besonders wichtig.

Iatrogen können Verletzungen der Harnröhre durch Mikrotraumata der Instrumente oder aber auch durch Drucknekrosen bei Katheterereinlage entstehen. Angestautes Sekret und Urin, infolge dessen es zu einem mangelndem Spüleffekt kommt, wirken sekundär entzündungsfördernd auf das Urothel (Honnens de Lichtenberg and Miskowiak, 1990).

Nach einem stumpfen Trauma kann es zur Verletzung des bulbären Teils der Urethra kommen, indem dieser gequetscht oder gegen die Beckensymphyse gedrückt wird (Biserte and Nivet, 2006). Auch ein Abriss oder partieller Abriss der Harnröhre ist möglich (Elgammal, 2009). Bei einer Gewalteinwirkung auf das Becken mit daraus resultierender Beckenfraktur kommt es bei 5-10% der Patienten zur Ruptur der *Pars membranacea*. Bis zu 66% dieser Verletzungen des hinteren Teils der Harnröhre sind komplette Abrisse (Mundy, 1999). Typischerweise geht ein Abriss der Urethra mit einer Butterfly-Fraktur der Beckensymphyse, mit oder ohne Beteiligung des Kreuzbein-Darmbeingelenks, oder einer vertikalen Fraktur des *Os sacrum*, des *Os ischii* oder des *Os pubis* (Malgaigne's Fraktur) einher (Mundy, 1999).

Zudem können Strikturen der Harnröhre auch als Folge von operativen Eingriffen im Bereich der hinteren Harnröhre vorkommen (transurethralen Prostatektomie, offene Prostatektomie). Die Inzidenz dafür liegt bei 0,5% bis 25,7% (Gozzi et al., 2008, Bader et al., 2010).

Tumoröse Geschehen können ebenfalls eine Obstruktion verursachen. Diese

bezeichnet man dann als maligne Harnröhrenengen.

1.3.3. Entzündliche Ursachen

Vor 30 Jahren war die Hauptursache der Harnröhrenstrikturen zu 40% entzündlicher Natur (Lumen, 2009). Sexuell übertragbare Erkrankungen, wie die Gonorrhoe oder die Tuberkulose, spielten dabei eine bedeutende Rolle (Spence, 1983). Mit Einführung der Antibiose und die Behandelbarkeit bestimmter bakterieller Infektionen sind diese Erkrankungen seltener geworden. Auch die Prävention von sexuell übertragbaren Krankheiten der Neuzeit (HIV-Virus) hat die Inzidenz für postentzündliche Strikturen gesenkt (Lumen, 2009).

Dennoch muss bedacht werden, dass in Entwicklungsländern die postentzündliche Strikturen mit 54 % bis 66,5% auch in der heutigen Zeit nicht an Bedeutung verloren hat (Lumen, 2009). Auch die Balanitis xerotica oliterans kann zur Verengung der *Fossa navicularis* führen (Steffens et al., 2010, Gozzi et al., 2008).

Andere Erreger, wie das Epstein-Barr Virus (EBV), Herpes simplex Virus Typ 1 (HSV-1), HSV-2, Cytomegalovirus (CMV), Adenovirus, Chlamydia trachomatis, Mycoplasma genitalium and Ureaplasma urealyticum können eine Rolle bei der Entstehung einer Urethritis spielen. Grundsätzlich ist der bulbäre Teil der Urethra als Eintrittspforte für Infektionen der Harnröhre von entzündlichen Veränderungen eher betroffen (Berntsson et al.).

1.4. Symptomatik

Patienten, die unter einer Harnröhrenstriktur leiden, stellen sich mit obstruktiven Miktionsbeschwerden vor. Der Harnstrahl ist abgeschwächt, Pollakisurie, Restharngefühl und Nykturie können auftreten. Die Obstruktion kann bis zum Harnverhalt führen (Gozzi et al., 2008).

Durch den erhöhten Druck beim Urinabsatz kann es zur Verdickung der Harnblasenwand kommen, der *M. detrusor vesicae* hypertrophiert. In Folge dessen können eine Detrusorschwäche und eine Divertikelbildung auftreten. Die Veränderung der Druckverhältnisse durch die Nichtableitung des Urins kann im schlimmsten Fall eine Niereninsuffizienz herbeiführen. Meistens kommen sekundär Harnwegsinfekte hinzu (Rödder et al., 2006, Gozzi et al., 2008).

Nur Harnröhrenstrikturen, die urodynamisch wirksam sind, müssen behandelt werden (Hofmann, 2005). Bei Erwachsenen werden die Engen ab einer

Lumengröße von unter 16 Charr. klinisch relevant (Stack and Schlossberg, 1998). Daher ist besonders ein frühzeitiges Erkennen und Behandeln notwendig, um sekundäre Folgeschäden zu vermeiden (Pansadoro and Emiliozzi, 1998).

1.5. Diagnostik

Um die geeignete Therapieform bestimmen zu können, ist eine umfassende Diagnostik der Harnröhrenverengung essentiell. Die präoperative Diagnostik sollte in Zusammenarbeit mit dem behandelnden Operateur durchgeführt werden (Schreiter, 2006).

Die Lokalisation, die Länge, die Form der Striktur und die funktionelle Auswirkung auf den Harntrakt müssen bei der Diagnostik beachtet werden (Kilian and Schreiter, 1998). Wichtig ist zudem eine gründliche Anamnese. Hierbei werden die Medikamentenanamnese, urologische Vorerkrankungen oder Eingriffe sowie Begleiterkrankungen besprochen (Hofmann, 2005).

Verfahren zur Darstellung der Stenose sind zum einen Kontrastmitteldarstellungen der Urethra. Es kann entweder eine retrograde oder eine antegrade Urethrographie bzw. Urethrozystographie oder eine Miktionsurethrographie durchgeführt werden. Hierbei wird das Kontrastmittel entweder von retrograd über den *Meatus* mit Hilfe eines Katheters oder von antegrad verabreicht. Die antegrade Darstellung kann über einen suprapubischen Zugang oder systemisch durchgeführt werden. Am Besten ist es, die dynamische der statischen Kontrastmitteldarstellung gegenüberzustellen (Schreiter, 2006).

Die retrograde Kontrastmitteldarstellung ist eine morphologische Untersuchung der harnableitenden Wege, wohingegen es sich bei der Ausscheidungsurographie zumindest teilweise auch um eine funktionelle Untersuchung handelt. Retrograde Darstellung und Ausscheidungsurographie in Kombination lassen eine genaue Beurteilung der Stenose zu (Rödter et al., 2006).

Die Urethroskopie und die Sonographie sind weitere diagnostische Verfahren. Die Endoskopie der Harnröhre und der Blase sollte vor jedem operativen Eingriff durchgeführt werden. Als Kontraindikation gilt hierbei ein akuter Harnwegsinfekt. Ein Harnstatus ist daher vor jedem Eingriff obligat. Erst nach antibiotischer Behandlung der Infektion kann die Endoskopie angeschlossen werden, um eine Bakteriämie zu verhindern. Endoskopien der Harnröhre und der Harnblase können mit starren oder flexiblen Endoskopen durchgeführt werden. Beim Einführen in

die Harnröhre ist äußerste Vorsicht geboten, um keine Verletzungen zu setzen. Daher ist das Einführen des Instruments unter Sicht weniger risikobehaftet (Jocham, 2007). Die Größe des Endoskops sollte immer so gewählt werden, dass die Strikturen nicht aufgedehnt werden (Stack and Schlossberg, 1998).

Ein Vorteil der Sonographie ist die detaillierte Beurteilung der Gewebeveränderung der Urethra, wie im Fall einer zugrundeliegenden Spongiofibrose. Die Untersuchung wird mittels eines 7- oder 10-MHz-Schallkopfs durchgeführt (Stack and Schlossberg, 1998). Wichtig ist dabei die dreidimensionale Darstellung der Urethra, um mögliche Fehlinterpretationen zu vermeiden (Gozzi et al., 2008). Aufgrund unzureichender Diagnostik werden besonders proximale, bulbäre Harnröhrenstenosen übersehen (Stack and Schlossberg, 1998).

Die Uroflowmetrie ist ein diagnostisches Verfahren, bei dem der Harnausfluss während der Miktion bestimmt wird. Sie dient der objektiven Feststellung von Blasenentleerungsstörungen bzw. der quantitativen und qualitativen Beurteilung des Harnstrahls. Anhand der Uroflow-Kurven kann der Urologe Rückschlüsse auf eventuell vorliegende Engstellen schließen. Das Muster der Uroflowmetrie gibt einen Hinweis auf die Ursache der Verengung der Harnröhre. Eine Prostataveränderung, Detrusor- oder Sphinkterveränderung muss dabei ebenfalls als Ursachen für eine Obstruktion in Betracht gezogen werden. Bei der Harnröhrenstriktur kommt es im Uroflow zu einer deutlich verringerten Maximalrate mit einem Plateau. Restharmengen können sonographisch gemessen werden. Die Uroflowmetrie ist ein Standardverfahren, welches grundsätzlich als eines der ersten diagnostischen Mittel eingesetzt wird (Schmelz, 2006, Hofstetter, 1996). Die Uroflow-Untersuchung eignet sich gut zur Verlaufskontrolle (Kilian and Schreiter, 1998).

Eine Magnetresonanztomographie (MRI) bei hinteren Harnröhrenstrikturen, wie sie zum Beispiel nach einem Beckentrauma auftreten, kann in Kombination mit einer Kontrastmitteldarstellung sinnvoll sein (Peterson and Webster, 2004).

Neuere diagnostische Möglichkeiten, wie zum Beispiel die optische Kohärenztomographie (OCT) können eine Darstellung der Gewebestrukturen von einer Größe unter 10 μm gewährleisten (Weidlich et al., 2007). Während eines endourologischen Eingriffes war eine Beurteilung des Gewebes durch den

behandelnden Urologe bisher nur makroskopisch oder postoperativ histopathologisch möglich. Durch dieses minimalinvasive Verfahren eröffnen sich neue Möglichkeiten. Das Ausmaß der Spongiofibrose könnte somit präoperativ besser abgeschätzt werden.

2. Die Wundheilung der Harnröhre

2.1. Die Phasen der Wundheilung

Die Wundheilung ist ein dynamischer und komplexer Vorgang mit verschiedenen Phasen: Exsudationsphase, Proliferationsphase und Reparationsphase. Das Ziel der Wundheilung ist eine Wiederherstellung des verletzten Gewebeabschnitts.

Die Exsudationsphase dauert circa 4 Tage. Nach der Verletzung des Gewebes kommt es zur Aktivierung der Gerinnungskaskade, zur Vasokonstriktion und Blutstillung im Wundgebiet. Vernetzte Gerinnungsprodukte und einwandernde Zellen in das Gerinnsel setzen Wachstumsfaktoren frei. Neutrophile Granulozyten werden über Chemokine und Wachstumsfaktoren an die Oberfläche des verletzten Gewebes gelockt und wandern durch Diapedese innerhalb von 24-36 Stunden in das betroffene Areal ein. Die neutrophilen Granulozyten phagozytieren das Fremdmaterial und setzen proteolytische Enzyme und freie Radikale frei. Das Wundsekret, welches aus Blut, abgestorbenen Zellbestandteilen und Fibrin besteht, bildet eine Barriere gegen Bakterien an der Oberfläche der Wunde. Monozyten aus dem Blut wandern in der späten inflammatorischen Phase (nach circa 48-72 h) in das Gewebe ein. Die Makrophagen spielen eine Schlüsselrolle in der resorptiven Phase der Wundheilung und auch bei der Einleitung der Kollagensynthese. Sie produzieren zahlreiche Zytokine und Wachstumsfaktoren: u.a. TNF- α , PDGF, Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), TGF- α , - β , IL-1, IL-6, IGF-1 und Fibroblast Growth Factor (FGF). Die Makrophagen haben eine längere Überlebensdauer als die neutrophilen Granulozyten und sind daher auch noch am Ende der entzündlichen Phase bei abgesenkten pH-Wert vorhanden. Lymphozyten wandern später als die anderen Entzündungszellen ein (Souza-Offermatt, 2004, Velnar et al., 2009, Liedl, 2007).

Die Proliferationsphase beginnt am 3. Tag und kann bis zu 2 Wochen andauern. Hauptsächlich kommt es hierbei zur Angiogenese, Fibroblastenmigration und zur Produktion von Kollagen. Der größte Trigger für die Angiogenese ist die

Hypoxie im Wundgebiet. Die Fibroblasten produzieren die Gewebematrix. Das Maximum des Kollagengehalts der Wunde ist am 11. Tag nach der Verletzung zu sehen. Im Wundgebiet herrscht ein permanenter Auf- und Abbau an Kollagen. Fibroblasten, die bereits ab dem ersten Tag nach der Verletzung vor Ort sind, werden unter anderem von den Faktoren TGF- β und PDGF aktiviert. Ab dem Ende der ersten Woche differenzieren sich die Fibroblasten zu den Myofibroblasten. In dieser Phase kommt es auch zur Wundkontraktion, welche die Wundenden einander annähert. Die abschließende Reparatursphase dauert circa 5 Tage. Dabei wird die extrazelluläre Matrix umstrukturiert. Bis zum entgültigen Remodelling des Gewebes können Monate bis Jahre vergehen (Jocham, 2007, Velnar et al., 2009, Souza-Offtermatt, 2004).

Die Wundheilung läuft entweder als primäre, sekundäre oder tertiäre Wundheilung ab. Primäre Wundheilung gibt es nur bei Wunden, die sauber und nicht infiziert sind. Zudem müssen die Wundränder glatt und leicht zu adaptieren und die Durchblutung des verletzten Gebietes darf nicht beeinträchtigt sein. Infizierte, weit klaffende Wunden mit einem großem Gewebedefekt oder trophischen Störungen heilen sekundär. Es wird dort mehr Ersatzgewebe gebildet, um den Defekt zu überbrücken (Granulationsgewebe). Eine größere Narbe mit weniger reißfestem Kollagen entsteht. Tertiäre Wundheilung gibt es nur nach Transplantation von Gewebe (Souza-Offtermatt, 2004).

Bei der Narbenbildung im erwachsenen Organismus entsteht nach einer lokalen Entzündungsreaktion Bindegewebe, das zum überwiegenden Teil von Fibroblasten und Myofibroblasten gebildet wird. Diese haben kontraktile Eigenschaften, die zur Zusammenziehung des Wundgewebes und somit zur Lumenreduktion röhrenförmiger Organe führen können (Rodemann and Bamberg, 1995).

Die genauen Mechanismen, die bei der Wundheilung der Harnröhre ablaufen, müssen noch geklärt werden. Unklar ist auch, ob die Wundheilung der Harnröhre mit der anderer Organe vergleichbar ist (Cavalcanti et al., 2007).

2.2. Die Pathogenese der Harnröhrenstriktur

Für die Pathogenese der Harnröhrenstriktur ist zum einen die Verletzung der Schleimhaut und zum anderen die entzündliche Reaktion des Gewebes ein wichtiger Faktor. Die Reduzierung des Harnröhrenlumens ist abhängig von der

Ausprägung der Narbe und der zugrunde liegenden Spongiofibrose. Das Lumen der Urethra ist je nach Schwere mehr oder weniger eingeengt. Die Veränderungen gehen von einer geringen Narbenspange bis zu einer ausgeprägten Spongiofibrose mit Fistelbildung (Bandhauer, 1991). Die Extravasation des Urins nach Verletzung der Urethra spielt eine bedeutende Rolle im Hinblick auf die Striktorentstehung. Dieser Prozess verstärkt insgesamt die periurethrale entzündliche Reaktion (Scherz et al., 1992, Singh and Blandy, 1976).

Morgia et al. (2000) sehen im Bereich der Striktur bei rein mikroskopischer Betrachtung eine chronische Entzündung mit einem komplexen pseudogeschichteten kubischen Epithel. An elektronenmikroskopischen Untersuchungen entwickeln sie die Hypothese, dass im Strikturbereich Veränderungen der Kollagenbiosynthese (hyperdenses und nicht normal strukturiertes Kollagen) und der Fibroblastenaktivierung stattgefunden haben müssen. Zusätzlich untersuchten sie den Kollagengehalt der Strikturen. Hierbei war der Anteil an Kollagen Typ 1 im Narbenbereich im Vergleich zum normalen Gewebe von 75,1% auf 83,9% erhöht. Kollagen Typ 2 hingegen war reduziert (24,9% auf 16,1%). Die zugrunde liegenden exogenen Trigger, die für die Veränderungen auf molekularer Ebene der Proteinbiosynthese bzw. der kollagenen Matrix verantwortlich sind, konnten bisher noch nicht weiter identifiziert werden. Rein hypothetisch können auch angeborene oder erworbene Kollagen-Defekte zu wiederkehrenden Strikturen führen (Morgia et al., 2000).

In einer tierexperimentellen Studie wurden die Harnröhren von 40 männlichen Meerschweinchen mit einer feinen Schere auf Höhe des bulbären Anteils (mit unterliegendem *Corpus spongiosum*) verletzt und anschließend wurde das Gewebe der Tiere am Tag 2 und 1, 2, 3, 4, Wochen nach Strikturinduktion histologisch untersucht, um die zeitliche Entwicklung der Striktur nachzuvollziehen. In der ersten Woche sind Fibroblasten und Myofibroblasten vorherrschend, das Urothel einschichtig oder ulzeriert. 3-4 Wochen nach der Verletzung zeigt sich histologisch kein Rückgang zum normalen urethralen Gewebe. Es sind vermehrt kollagene Fasern, aber kaum elastische Fasern vorhanden. Das Urothel zeigt sich zum Teil als Plattenepithel (Scott and Foote, 1980).

Die Rolle der Myofibroblasten in der Striktorentstehung gilt als bewiesen, da diese bereits in der frühen Phase der Wundheilung vorhanden sind (Scott and

Foote, 1980).

Wichtig ist in Bezug auf die Ausbildung der Narbe die Frage, ob der Anteil an Kollagen in der Strikturen erhöht ist oder nicht, wie es zum Beispiel bei hypertrophen Narben der Haut der Fall ist oder ob sich das Verhältnis der einzelnen Komponenten zueinander ändert? Dazu gibt es verschiedene Untersuchungen.

Da-Silva et al. (2002) bestätigen die physiologisch unterschiedliche Konzentration an Kollagen und Glycosaminoglycanen innerhalb der verschiedenen Abschnitte der spongiösen nativen Urethra. Das glanduläre urethrale Segment enthält im Gegensatz zum bulbären Anteil am meisten Kollagen. Daraus schlussfolgern sie, dass es unterschiedliche Anpassungsmechanismen der einzelnen Abschnitte der Harnröhre in Bezug auf die Narbenbildung gibt. Chondroitinsulfat, Dermatansulfat und Heparansulfat sind die dominanten Glycosaminoglycane in der männlichen spongiösen Harnröhre. Verschiedene Glycosaminoglycane spielen eine modulatorische Rolle, indem sie zum Beispiel den Fibroblasten-Growth-Factor präsentieren können (Da-Silva et al., 2002).

Einerseits wird postuliert, dass die Menge an Kollagen im Strikturbereich an sich zunimmt, andererseits das Verhältnis der einzelnen Kollagenkomponenten zueinander verschoben ist (Cavalcanti et al., 2007). Kollagen Typ 1, welches in der Strikturen im Vergleich zur gesunden Harnröhre vermehrt vorhanden ist, ist zuständig für die Festigkeit der Narbe. Auch bei anderen Erkrankungen wie der Lungenfibrose findet man dieses Phänomen. Kultivierte Fibroblasten aus Keloidwunden hatten ein erhöhte mRNA (Messenger-Ribonukleinsäure) Level für Kollagen Typ 1 (Baskin et al., 1993). Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass der Mechanismus der Striktorentstehung nach wie vor nicht vollständig geklärt ist.

2.3. Die Myofibroblasten

Der Myofibroblast ist eine spezialisierte Zelle der Wundheilung. Er entwickelt sich aus dem Protomyofibroblast, einem aktivierten Fibroblasten. Als weitere Quellen für die Myofibroblasten werden unter anderem vaskuläre, glatte Muskelzellen, Perizyten oder Mesenchymalzellen diskutiert (Hinz, 2007, Yarnold and Vozenin Brotons, 2010). Allerdings finden sich auch im gesunden Gewebe Myofibroblasten in der Haut, in Haarfollikeln, im Peridont und in der Lunge

(Meister, 1998).

Die Myofibroblasten, welche sich aus dem Fibroblasten-Fibrozytensystem entwickeln, entstehen aus den Vorläuferzellen MF II (mitotische Fibroblasten II). Die mitotischen Fibroblasten (MF I-III) bilden das teilungsfähige Kompartiment dieses Systems, während die PMF IV-VI (postmitotischen Fibrozyten) die Produktion von Bindegewebe als Hauptaufgabe haben (Rodemann, 2006).

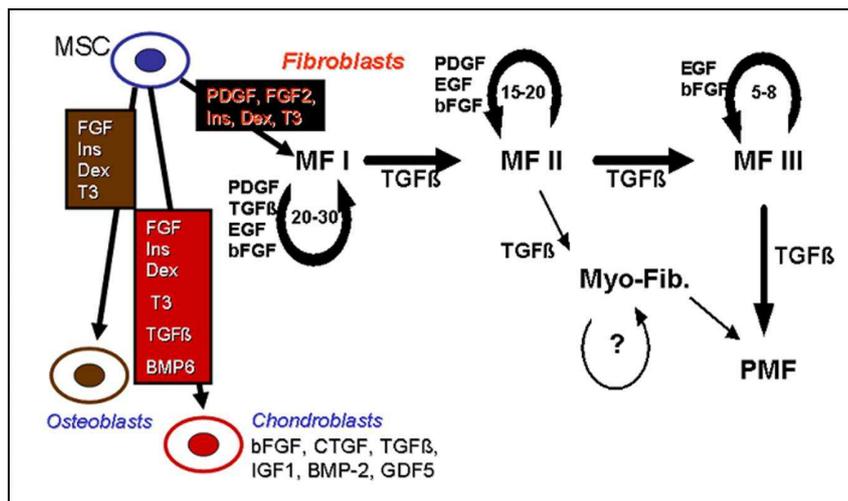
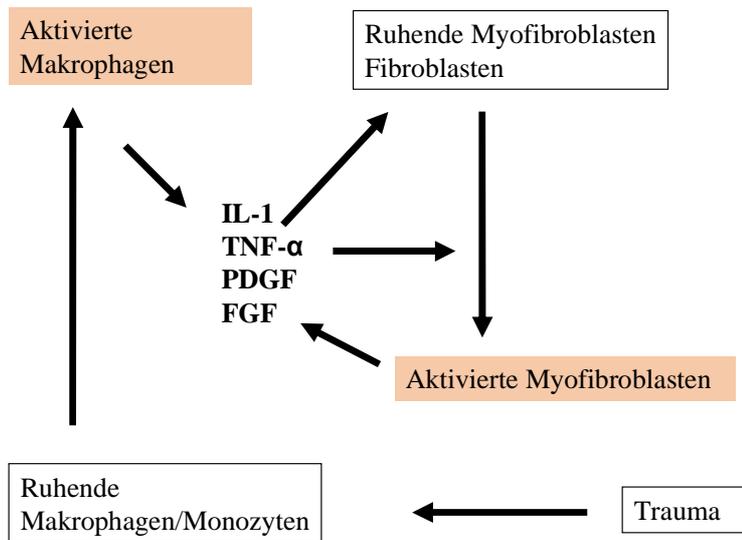


Abbildung 3: Fibroblasten-Fibrozyten-System (MF: Vorläuferfibroblasten; PMF: Postmitotische Fibrozyten) (Rodemann, 2006)

Phänotypisch zeigen sich die Myofibroblasten als ein Zelltyp zwischen den Fibroblasten und den glatten Muskelzellen. Die Myofibroblasten exprimieren das α -SMA (Alpha-glatt-mukuläre Aktin), ein Isoprotein, welches als Myofibroblastenmarker dienen kann. Komponenten der extrazellulären Matrix, mechanischer Druck, Zugkräfte und inflammatorische Zytokine (TGF- β 1) sind beteiligt an der Umwandlung der Fibroblasten in die Myofibroblasten (Hinz, 2007, Desmouliere et al., 2005).

Hauptaufgabe der Myofibroblasten ist zum einem die Produktion der extrazellulären Matrix (Kollagen Typ 1, 3, 4, 5, Fibronectin, Tenascin), zum anderen auch die Kontraktion der Wunde. Myofibroblasten sind über Gap Junctions miteinander und mit der extrazellulären Matrix verbunden und reagieren auf mechanische Reize. Stimuliert wird die Wundkontraktion unter anderem durch TGF- β und PDGF. Besonders die Makrophagen spielen eine wichtige Rolle in der Aktivierung der Myofibroblasten. Sie exprimieren PDGF und spezielle

Proteine (MIP, MCP), die stark mitogen und chemotaktisch auf die Myofibroblasten wirken (Rubin et al., 1999).



IL-1: Interleukin 1, TNF: Tumor-Nekrose-Faktor
 PDGF: Platelet Derived Growth Factor
 FGF: Fibroblast growth factor

Abbildung 4: Interaktion zwischen den Makrophagen/Monozyten und den Myofibroblasten

In vivo und in vitro gibt es eine direkte Korrelation zwischen der Menge an α -SMA und der Wundkontraktilität (Lorena et al., 2002). Die Myofibroblasten sollen durch diese Eigenschaft die Wundenden näher aneinander führen (Shin et al., 2006). Offene Wunden enthalten somit mehr α -SMA als bereits geschlossene (Meister, 1998, Hinz, 2007). Bei der physiologischen Wundheilung sind die Myofibroblasten solange vorhanden, bis das Gewebe repariert ist (Hinz, 2007). Kommt es zu einer gestörten Wundheilung, bedeutet dies, dass die Myofibroblasten weiterhin vorhanden sind und extrazelluläre Matrix produzieren und es infolge dessen zu einer Fibrose kommen kann (Lorena et al., 2002).

Die Myofibroblasten sind demnach von großer Bedeutung für die physiologische Rekonstruktion des Bindegewebes nach einem Gewebetrauma, aber auch bei der pathologischen Deformation und der Entstehung einer Fibrose. Wenn die Wundheilung abgeschlossen ist, gehen die Myofibroblasten normalerweise in die Apoptose-Phase über. Man nimmt an, dass der abnehmende Zellstress und der verbesserte intrazelluläre Kontakt dazu führen. In hypertrophen Narben hingegen sind Myofibroblasten sehr lange vorhanden. Daher geht man davon aus, dass bestimmte Myofibroblasten-Subtypen eventuell unempfindlich gegenüber

speziellen Apoptose-Triggern sind oder die Apoptose infolge einer Störung der Wundheilungskaskade grundsätzlich nicht eingeleitet wird (Hees, 2000, Lorena et al., 2002).

Im Tiermodell konnte nachgewiesen werden, dass bei einer Inzision in ein Granulationsgewebe die Apoptose der Myofibroblasten nicht eingeleitet wird (Hinz, 2007).

3. Historischer Überblick zur Therapie der Harnröhrenstrikturen

Die Behandlung von Harnröhrenverengungen hat eine lange Tradition. Schon von den Ägyptern sind transurethralen Eingriffen mit Papyrusrollen und Bronzekathetern durchgeführt worden. In Pompeji nutzten die Menschen Blei- und Kupferkatheter zur Dilatation (Schultze-Seemann, 1982). Strikturen wurden bei Griechen mit einer antegraden, inneren Schnittführung und anschließenden Exzision therapiert. Immer wieder tauchen Berichte über verschiedenste Therapiemöglichkeiten auf, aber die Ursache der Verengung der Harnröhre bleibt bis ins 18. Jahrhundert ungeklärt (Moll, 1999).

Mit der Entdeckung Nordamerikas und Beginn der Neuzeit traten die sexuell übertragbaren Krankheiten in den Vordergrund und somit auch die Bedeutung der Behandlung der Strikturen. Die transurethrale antegrade, innere Urethrotomie und später die retrograde innere Urethrotomie wurden entwickelt (Moll, 1999, Schultze-Seemann, 1982).

1853 wurde von dem französischen Arzt Antonin Jean Desormeaux das Urethroskop entwickelt. Er gilt als Pionier der Endoskopie. Zuerst war das Endoskop nur mit einer externen Lichtquelle, später mit einer internen Lichtquelle ausgestattet (Brandes, 2008, Schultheiss et al., 1998). Zur gleichen Zeit standen in anderen Ländern wie England, USA und Frankreich elektrische Methoden zur Beseitigung der Strikturen im Mittelpunkt (Moll, 1999).

1876 entwickelte Fessenden N. Otis (1825-1900) ein Urethrotom ohne Sichtkontrolle. Da der Schaft des Urethrotoms sehr breit ist, kann es bei sehr engen Strikturen nicht eingeführt werden. Otis entwickelte die Methode der „dilatierenden Urethrotomie“, um den ursprünglichen Zustand der Harnröhre nach multiplen Strikturen wieder herzustellen (Moll, 1999).

Eine Weiterentwicklung des Urethroskops gelang 1937 Karl S. Fischer, der die Elektrokoagulation bzw. Elektoresektion mit der Endoskopie verbinden konnte. Hans Sachse modifizierte 1971 das Urethrotom nach Fischer, indem er die Elektrokoagulationsschlinge durch ein „kaltes Messer“ ersetzte. Zu dieser Zeit war die Elektrokoagulation der Goldstandard. Sachse erkannte, dass die durch eine Schlitzung ohne Hitze weniger Nekrosen und Restenosen entstehen. Das erste „Sachse-Urethrotom“ wurde von der Firma Karl Storz Co., Tuttlingen gebaut (Brandes, 2008, Schultheiss et al., 1998).

Im April 1977 wurde von dem deutschen Hartig Bülow die erste Laserurethrotomie mit einem Neodymium-Laser durchgeführt. Ein Jahr später begann Carl Friedrich Rothauge in Gießen mit der Anwendung des Argon Lasers. Auch der KTP- (Kaliumtitanylphosphat) und der Holmium-Yttrium-Aluminium-Laser kamen zum Einsatz (Schultheiss et al., 1998). Heutzutage werden verschiedene Lasersysteme für die Behandlung der Harnröhrenstrikturen eingesetzt. Es sind Systeme mit hoher thermischer Wirkung oder Systeme zum Kontaktschneiden vorhanden (Hofstetter, 2003).

Auch plastische Verfahren wie die End-zu-End Anastomose wurden schon 1883 an der Harnröhre durchgeführt (Brandes, 2008). An der Historie der Behandlung der Harnröhrenstrikturen lässt sich erkennen, dass neben modernen Behandlungsmöglichkeiten ganz alte Prinzipien, wie die Dilatation der Harnröhre, bis heute eine Rolle spielen (Moll, 1999).

4. Therapieformen der Harnröhrenstrikturen

Die Behandlung eines akuten Harnstaus gehört zu den ersten Maßnahmen bei der Therapie der Harnröhrenstrikturen (Gozzi et al., 2008). Hierzu eignet sich entweder das Anlegen einer suprapubischen Blasenfistel oder das vorsichtige Einlegen eines Dauerkatheters (Gozzi et al., 2008). Erst nachdem dieses akute Problem behoben ist, kann mit der Therapie der Striktur begonnen werden. Zur Behandlung der Harnröhrenstriktur stehen je nach Ausmaß, Länge, Häufigkeit des Auftretens, der Ursache und der Lokalisation verschiedenen Therapiemöglichkeiten zur Verfügung:

- Dilatation
- Urethrotomia interna

- Laserverfahren
- Harnröhrenstents
- Harnröhrenanastomosen
- Harnröhrenplastiken

4.1. Dilatation der Harnröhrenstrikturen

Die Dilatation der Harnröhre ist eine der ältesten Methoden zur Behandlung von Harnröhrenverengungen. Ziel der urethralen Dilatation ist eine dynamische Aufdehnung der Narbe und eine Vergrößerung des Lumendurchmessers der Urethra. Dies geschieht durch die Auswirkung der längswirkenden Zugkräfte auf die Narbe. Komplikationen dieser Methode können Einrisse, Infektionen, posttraumatische Ödeme, Schleimhauttrauma, Extravasation, Blutungen und eine *Via falsa* (= falscher Weg durch eine Perforation der Harnröhrenwand) sein (Bandhauer, 1991, Niesel et al., 1995).

Das Aufdehnen oder „*bougieren*“ der Harnröhre (engl. *Bougie* = Dehnsonde) wird mit Hilfe von Kathetern oder speziellen Ballonkathetern durchgeführt. Die Bougierung mit Dehnsonden wird schrittweise durchgeführt. Die Dehnung sollte nicht über 18 bis 24 Charr. hinausgehen (Bandhauer, 1991). Ballonkatheter, wie sie auch in der Kardiologie zum Einsatz kommen, erscheinen weniger traumatisch für das Gewebe, da die Kräfte hierbei exzentrisch wirken (Niesel et al., 1995). Die Ballonierung erfolgt unter Röntgenkontrolle. Die Dauer der Dilatation beträgt ein bis fünf Minuten (Schreiter, 2006). Die Methode des Aufdehnens hat den Vorteil, dass sie schnell, effektiv und einfach in der Durchführung ist (Niesel et al., 1995). Der Nachteil ist die hohe Restrikturrate (Niesel et al., 1995). Laut Niesel et al. (1995) gibt es eine anfängliche Erfolgsrate von 100% bei der Anwendung der Ballondilatation, aber Pansadoro et al. (Pansadoro and Emiliozzi, 1998) berichten hingegen über eine Rezidivrate von 89% bei einem 1-Jahres Follow up nach durchgeführter Ballondilatation (Pansadoro and Emiliozzi, 1998, Niesel et al., 1995). Andere Studien postulieren eine weitaus geringere Therapieerfolgsrate im Vergleich zur Urethrotomia interna (Mohammed and Wirima, 1988).

Die Ausprägung des Narbenrings ist bei der Wahl der Behandlungsmethode ausschlaggebend. Wo es bei der Dilatation zu Einrissen des Narbengewebes kommen kann, wird hingegen bei der Urethrotomia interna die Narbe über ihre

gesamte Länge eingeschnitten. Bei Patienten, die an einer rein epithelialen Striktur ohne Spongiofibrose leiden, kann diese Methode potentiell kurativ sein (Stack and Schlossberg, 1998). Auch eignen sich die bulbären kurzstreckigen Stenosen für diese Behandlungsform (Mundy, 2006).

4.1.1. Die Urethrotomia interna nach Sachse

Neben der Urethrotomia interna nach Otis ist die Urethrotomia interna nach Sachse eine weit verbreitete Behandlungsmethode.

Das Prinzip der Urethrotomia interna ist eine Erweiterung des Harnröhrenlumens durch eine Inzision des Narbengewebes. Die Inzision kann von antegrad oder von retrograd durchgeführt werden. Die Sichturethrotomie (DVIU = *direct vision internal urethrotomy*) ermöglicht im Gegensatz zur „blinden Urethrotomie“ nach Otis eine exakte Schnitfführung. Die Urethrotomia interna nach Sachse ist ein etabliertes Verfahren zur Behandlung von kurzstreckigen Strikturen. Der Patient wird in Steinschnittlage gebracht. Ohne vorherige Bougierung wird die Striktur mit einem Sichturethroskop dargestellt. Kochsalzlösung wird als Spüllösung eingebracht, um das Lumen der Harnröhre offen zu halten. Die Harnröhre wird auf 12 Uhr geschlitzt, da dort die Verletzungs- und Blutungsgefahr am geringsten ist. Im membranösen und bulbösen Anteil der Urethra sollten die Gefäßnervenbündel geschont werden. Die Narbe muss soweit eingeschnitten werden, bis der Durchmesser der Harnröhre den Durchmesser des Instruments um ein Drittel überschreitet (Bandhauer, 1991).

Einige Chirurgen bevorzugen auch das Einschneiden der Narbe auf 10 und 2 Uhr, andere wiederum bei 2, 6 und 10 Uhr. Es gibt keine randomisierten Studien über die Effizienz der einzelnen Schnittmuster. Das Verfahren wird unter lokaler oder regionaler Anästhesie durchgeführt. Dabei sollte die Striktur über die gesamte Länge geschlitzt werden. Bei langstreckigen Strikturen können auch mehrere Schnitte von Nöten sein. (Rödter et al., 2006, Pansadoro and Emiliozzi, 1998, Schreiter, 2006, Naudé and Heyns, 2005).

Komplikationen treten in 7-11% der Fälle auf. Zu diesen gehören Blutungen, Infektionen der Harnröhre oder die Extravasation von Kontrastmittel oder Urin. Auch die Frage nach der Einlage eines Dauerkatheters postoperativ wird kontrovers diskutiert. Von 24-35 Stunden bis zu 6 Wochen nach der OP geht die Spannbreite (Pansadoro and Emiliozzi, 1998). Eine perioperative Antibiose im

Sinne einer prophylaktischen Antibiotikatherapie ist sinnvoll (Sachse et al., 1985).

Als weitere Nebenwirkungen einer Urethrotomia interna nach Sachse können bei 2,2 bis 10,6% der behandelten Patienten eine erektile Dysfunktion aufgrund der direkten Schädigung der kavernen Nerven auftreten (Schneider et al., 2001).

Laut Rödder et al. (Rödder et al., 2006) sind 50-60% der Patienten nach der ersten Urethrotomia interna nach Sachse rezidivfrei. Pansadoro et al. (Pansadoro and Emiliozzi, 1998) sprechen von 56-95%. Bei Strikturen unter 1 cm geben Niesel et al. (Niesel et al., 1995) eine Rezidivfreiheit von 71-87% an. Gozzi et al. (Gozzi et al., 2008) berichten ebenfalls bei kurzstreckigen Stenosen unter 1,5 cm von einer Erfolgsrate von 74%. Treten Rezidive auf, sollte spätestens nach dem 2. Rezidiv eine offene Plastik der Harnröhre angestrebt werden (Rödder et al., 2006, Niesel et al., 1995, Gozzi et al., 2008, Pansadoro and Emiliozzi, 1998).

Heyns et al. (Heyns et al., 1998) raten nach der 3. Urethrotomia interna zur Urethroplastik, da es kaum Erfolgsaussichten gibt (Heyns et al., 1998).

Auch die urodynamischen Kontrollen postoperativ geben Aufschluss über den Therapieerfolg. In den letzten Jahren gelten Werte unter 15 ml/s als Therapieversagen (Schreiter, 2006).

Pansadoro et al. (1998) stellten in einer Studie an 224 Patienten eine Erfolgsrate bei bulbären Strikturen bei 42% und bei penilen Strikturen bei 16% fest. Der Erfolg war unabhängig von der Ätiologie aber abhängig von der Lokalisation, der Länge, dem Durchmesser (größer oder kleiner als 15 Charr.) und der Anzahl der Strikturen (Pansadoro and Emiliozzi, 1998).

Andererseits wird festgestellt, dass das Ergebnis der Urethrotomia interna auch von der Ätiologie der Striktur abhängig ist. Iatrogen verursachte Strikturen sind besser zu behandeln als postentzündliche oder posttraumatische. Mehrfach durchgeführte Schlitzungen der Harnröhre führen zur Verschlechterung der Spongiofibrose (Niesel et al., 1995).

Gozzi et al. (2008) geben daher als Indikation für die Verwendung der Urethrotomia interna kurzstreckige, unbehandelte bulbäre Strikturen ohne Spongiofibrose und mit ausreichendem Abstand zur membranösen Harnröhre an (Gozzi et al., 2008).

In einer neuen retrospektiven Studie von Santucci et al. (2010) mit 136 Patienten,

die einer Urethrotomia interna unterzogen wurden (Sachse-Schlitzung oder Laserverfahren), zeigte sich, dass 49% der Strikturen in der bulbären Urethra rezidierten. Während viele Studien von einer Erfolgsrate von 20-95% bei der ersten Urethrotomie sprechen, gehen Santucci et al. (2010) nur von 8% aus. Wiederholte Urethrotomien haben eine Erfolgsaussicht von 0-8%. Wenn nach 3 Monaten keine Restriktur auftrat, bleiben 60% der Patienten für 48 Monate rezidivfrei (Heyns et al., 1998, Santucci and Eisenberg, Santucci and Eisenberg, 2010).

Problematisch bei der Beurteilung des Langzeiterfolgs sind unterschiedliche Beurteilungskriterien des Erfolgs der OP und auch die unterschiedlichen Nachbeobachtungszeiten der durchgeführten Studien. Auch die innerhalb einer Studie wechselnde Chirurgen sind ein Problem bei der Beurteilung des Erfolgs (Heyns et al., 1998)

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Urethrotomia interna insgesamt eine niedrigere Erfolgsrate hat als die Urethroplastik und daher die Indikation dieser OP-Technik gut überlegt werden muss. Bei multiplen und langstreckigen, wiederkehrenden, penilen und membranösen Strikturen oder bei ausgeprägter Spongiofibrose sollte eine Urethroplastik in Betracht gezogen werden (Naudé and Heyns, 2005).

4.1.2. Die Urethrotomia interna – Laserverfahren

Der Einsatz von Laser (*Light amplification of stimulated emission of radiation*) in der Urologie ist heutzutage nicht mehr wegzudenken. Vor allem das Team um Professor Dr. A. G. Hofstetter in München hat entscheidend zur Entwicklung der Geschichte der Laseranwendung in der Urologie beigetragen. Je nach Indikation und Behandlungsgebiet werden unterschiedliche Laser eingesetzt. Die biologischen Wirkmechanismen der Lasersysteme lassen sich in thermische und athermische Eigenschaften einteilen. Zwischen 45° C und 50° C gibt es Veränderungen an der Zellmembran und an den Enzymen. Ab 60° C entsteht eine Koagulation der Proteine, welche durch die Weißfärbung des Gewebes optisch sichtbar wird (Hofstetter, 2003).

Verschiedene Laser sind seit Ende der 70er Jahre im Einsatz. Man unterscheidet dabei Systeme mit hoher Inzisionskraft und Systeme mit hoher thermischer Wirkung. Neodym-YAG Laser, CO₂ –Laser und der Argon –Laser gehören zu

den Systemen mit hoher thermischer Wirkung. KTP-Laser, Ecimerlaser, Neodym-YAG-Fibertom, Diodenlaser, Erbiumlaser und der Holium-YAG Laser sind hingegen Systeme zum Kontaktschneiden (Schneede, 2003).

Laserbehandlungen bieten den Vorteil, dass weniger oder geringere Blutungen auftreten und über das thermische Verfahren eine Koagulation der behandelten Wunde entsteht. Nachteile der Lasertechnologie sind die hohen Anschaffungskosten und das Problem, dass der Laser nicht in allen Zentren vorhanden ist. Vorteile gegenüber der Sachse-Urethrotomie sind bislang in der Literatur nicht eindeutig belegt (Niesel et al., 1995, Schneede, 2003, Moreno Sierra et al., 2008)

4.1.2.1. Diodenlaser

Grundsätzlich besteht ein Laser aus verschiedenen Grundelementen: Einem aktiven Medium, einer Pumpquelle und einem Resonator. Unter einem Diodenlaser versteht man einen aus einer oder mehreren Laserdioden bestehenden, mit elektrischem Strom gepumpten, Halbleiterlaser. Diodenlaser wandeln elektrische Energie am effektivsten in kohärente Radiation um (Knappe, 2003). Diodenlaser werden in der Urologie für die Behandlung der benignen Prostatahypertrophie, bei Harnblasenkarzinomen und der Urethrotomia interna eingesetzt (Hofstetter, 2003).

In der Behandlung der urethralen Strikturen mit einem Diodenlasern haben Guazzieri et al. mit einem Diodenlaser der Wellenlänge 980 nm bei 45 Patienten nach einer 1-Jahres und einer 2-Jahres Folgeuntersuchung eine Erfolgsrate von 79,5% und 71%. Eine weitere Studie verwendete erfolgversprechend einen 805 nm Diodenlaser (Kamal, 2001, Guazzieri et al., 2001). Der 1.470 nm Diodenlaser ist in der Humanmedizin in der Phlebologie und der transurethralen Prostataresektion im Einsatz (Seitz et al., 2009).

4.2. Die Urethroplastik

Eine plastische Rekonstruktion der Harnröhre kann mit Hilfe von verschiedenen OP-Verfahren herbeigeführt werden. Bei der End-zu-End-Anastomose werden nach Entfernen des Narbengewebes die beiden Enden der Urethra aneinander genäht. Bei kurzstreckigen Strikturen (unter 2 cm) der bulbären Harnröhre werden gute klinische Ergebnisse mit der Strikturresektion und der End-zu-End-Anastomose erreicht (Rödder et al., 2006, Gozzi et al., 2008).

Die bulbären Urethra besitzt eine gewisse Elastizität. Sie kann 2-4 cm gedehnt werden. Dies ermöglicht bei kurzen bulbären Verengungen (unter 2 cm) eine Dehnbarkeit der Harnröhre, die nur in diesem Bereich möglich ist. Dabei ist zu beachten, dass an jedem Ende mindestens 1 cm an Gewebe vorhanden sein muss, damit die Enden bei der Anastomose überlappen. Längere Defekt können daher nicht mit der Exzision und der End-zu-End-Anastomose behandelt werden (Andrich and Mundy, 2000).

Bis zu 90% Rezidivfreiheit kann mit der End-zu-End-Anastomose erreicht werden. Nachteile dieses Verfahrens können die unterbrochene Durchblutung nach Exzision der Strikturen darstellen, auch eine unzureichende Mobilisierung der Schleimhaut und in diesem Zusammenhang auftretende Spannung auf die Wundnaht können das Langzeitergebnis beeinträchtigen. Rödder et al. berichten von einer 85% Rezidivfreiheit über 10 Jahre bei richtiger Indikationsstellung. Sie geben neben den bulbären auch die membranösen Strikturen jeglicher Ätiologie als Einsatzgebiet der End-zu-End-Anastomose an (Rödder et al., 2006, Gozzi et al., 2008). Bei einer primären Anastomose ist das Lumen der Harnröhre nach Abheilung immer kleiner als der ursprüngliche Durchmesser der Harnröhre. Das heißt, dass es immer einen gewissen Vernarbungsgrad gibt (Stack and Schlossberg, 1998). Vor jedem Eingriff sollte die letzte Manipulation der Harnröhre 8-12 Wochen bzw. 3 Monate zurückliegen (Stack and Schlossberg, 1998).

Die Rekonstruktion der Urethra kann auch mit einem Flap (gestielten Lappen) oder mit einem Graft (freien Transplantaten) durchgeführt werden. Zu unterscheiden sind weiter die One-Stage Urethroplastiken und die Two-Stage Urethroplastiken. Transplantate können aus verschiedenen Geweben entnommen werden: ausgedünnte Vorhaut oder Mundschleimhaut, Blasenschleimhaut, Lingualschleimhaut und mit dem Dermatom entnommene Oberschenkelhaut. Die Oberschenkelhaut eignet sich aber weniger aufgrund der Behaarung und der Dicke der Haut (Barbagli et al., 2003, Gozzi et al., 2008, Zinman, 2000)

4.3. Harnröhrenstents

Ein Harnröhrenstent ist eine endoluminale Prothese, die das Lumen der Harnröhre soweit offen halten soll, dass ein Urinabfluss für den Patienten möglich ist.

4.3.1. Geschichte der Harnröhrenstents

Der erste Metallstent wurde 1980 von Fabian bei Prostataobstruktionen eingesetzt (Schreiter, 2006). Nachdem man in anderen Fachgebieten der Medizin wie der Kardiologie gute Erfahrungen mit Stents gemacht hatte, entwickelte man den ersten Stent, der die Urethra offen halten sollte. Diese Implantate sollen sich mit ihren elastischen, radialen Ausdehnungskräften gegen die Urethrawand drücken und somit das Lumen offen halten. Permanente Stents stellen eine Alternative zu den transurethralen Dauerkathetern oder einer suprabubischen Fistel bzw. Zystotomie dar (Schreiter, 2006, Niesel et al., 1995).

4.3.2. Klinische Erfahrungen mit Stents in der Urologie

Man unterscheidet grundsätzlich temporäre und permanente Stents. Permanente Stents sind leicht unter lokaler Betäubung einzusetzen und sollten etwa 0,5 cm entfernt von Schließmuskel der Blase platziert werden. Sie werden primär in der bulbomembranösen Urethra verwendet. In der penilen Harnröhre sind sie ungeeignet. Komplikationen beim Einsatz der permanenten Stents sind die Dislokation, Inkrustation des Lumens, eine Steinbildung, Schmerzhaftigkeit, Hämaturie, Inkontinenz und wiederkehrende Infektionen der Harnröhre. Permanente Stents sollten nicht bei Kindern und Jugendlichen eingesetzt werden. Die Strikturen dieser Altersgruppen sollte man primär operativ versorgen (Schreiter, 2006, Milroy, 1998).

Laut Niesel et al. (1995) sind in der Literatur eine erfolgreicher Behandlung mit Stents bei über 90% der Untersucher beschrieben, wobei die meisten Follow up Zeiten 2 Jahre nicht überschreiten. Milroy et al. (1998) berichten von einer Studie über den Einsatz des Urolum-Harnröhren-Stents nach einem 5 Jahres Follow up von einer 93% Patientenzufriedenheit. 84% der Patienten hatten in dieser Studie eine normale Uroflowmetrie. 6 bis 8 Wochen nach Implantation traten bei 18% dieser Patienten Inkontinenz und Harnträufeln auf. Posttraumatische Strikturen und Restrikturen nach Urethroplastiken haben laut Milroy et al. (1998) eine höhere Therapieversagensrate nach Implantation eines permanenten Stents als Strikturen anderer Ätiologien (Milroy, 1998, Niesel et al., 1995).

Kommt es zum Therapieversagen nach einem Stenteinsatz bleibt den Patienten nur eine Urethroplastik oder ein dauerhafter suprapubischer Zugang, da sich meist aus einer einfachen Striktur eine komplexe Striktur entwickelt hat (Palminteri et

al., 2009).

Selbstabbaubare Stents sind bisher in der experimentellen Chirurgie mit guten Erfolgen eingesetzt worden (Isotalo et al., 2006). Innerhalb von 6 Monaten werden die Stents epithelialisiert und in die Wand inkorporiert (Niesel et al., 1995). Kommt es innerhalb des Implantats zu einer Fibrosierung bzw. einer Restenose kann eine endoskopische Resektion des fibrinösen Gewebes erfolgen oder eine Explantation mit anschließender Plastik wird nötig (Milroy, 1998).

4.4. Tissue Engineering und experimentelle Therapieansätze zur Therapie der Harnröhrenstriktur im Tiermodell

Die begrenzte Verfügbarkeit der freien Transplantate macht es wissenschaftlich interessant, Ersatzgewebe für die Rekonstruktion der Urethra mit den Methoden des Tissue Engineerings herzustellen.

Raya-Rivera et al. (2011) führten in einer aktuellen Studie eine urethrale Rekonstruktion mit Hilfe eines Tissue Engineering an 5 Patienten (mittleres Alter der Patienten: 10-14 Jahre) erfolgreich durch. Hierbei wurden autologe Gewebeproben auf ein Gerüst aufgebracht und in die Urethra implantiert (Raya-Rivera et al., 2011).

Auch mit anderen experimentellen Ansätzen wird versucht, die Restrikturrate zu senken. Triamcinolon wurde bei Patienten mit einer kurzen bulbären Striktur nach Urethrotomia interna in die Submukosa lokal appliziert. Das Triamciniolon, ein Glukokortikoid, hat antifibroblastische und antikollagene Eigenschaften. Die Restrikturrate war in der mit Triamcinolon behandelten Gruppe niedriger als in der Kontrollgruppe. Weitere Studien zu diesem Therapieansatz müssen folgen (Mazdak et al., 2009).

Lanreotide sind Somatostatinanaloga und haben einen hemmenden Einfluss auf die Proliferation von Myofibroblasten. Nach systemischer Verabreichung des Medikaments über 14 Tage nach Setzen einer urethralen Verletzung mit einer elektrischen Schlinge am Tiermodell des männlichen Kaninchens gab es keinen signifikanten Unterschied in der histologischen Auswertung der behandelten Tiere gegenüber der Kontrollgruppe (Andersen et al., 2003a). Eine weitere Möglichkeit, diesen beschriebenen Effekt zu erzeugen, könnte das Dilitazem, ein Calciumkanalblocker, sein (Dundar et al., 2002).

Ayyildiz et al. (2004) konnten bei Ratten gute Effekte mit Mitomycin-C auf die Reduzierung der Narbenausbildung nach einer Sachse-Schlitzung feststellen. Auch Botulinum Toxin A und Halofuginon hat diesen Effekt im Tiermodell (Sahinkanat et al., 2009, Nagler et al., 2000, Ayyildiz et al., 2004). Auch die Transplantation einer azellulärer Gewebematrix als Leitschiene zur Geweberegeneration des Urothels wurde im Tierversuch am Kaninchen erfolgreich durchgeführt (Parnigotto et al., 2000).

4.5. Bevorzugte Therapiemöglichkeiten der urethralen Strikturen

Je nach Lage und Länge der Striktur und den anatomischen Besonderheiten der einzelnen Abschnitte der Urethra gibt es bevorzugte Therapiemöglichkeiten.

Im penilen Bereich würden eine primäre Exzision und Anastomose zur Verkürzung der Urethra führen. Daher werden hier eher Flap- oder Graft-Techniken angewendet. Einschränkungen in der Elastizität und der Länge der Urethra können postoperativ auch die erektile Funktion des Patienten beeinträchtigen (Mundy, 2006).

Der Goldstandard bei bulbären Strikturen im vorderen Drittel unter 2 cm ist die Exzision und die End-zu-End Anastomose (Langzeiterfolge über 95%). Vor allem die Strikturen am Übergang vom penilen zum bulbären und vom bulbären zum membranösen Teil können so optimal behandelt werden. Weitere Möglichkeiten und kombinierte Techniken wie Flaps oder Grafts können auch hier angewendet werden. Einige Autoren ziehen die dorsalen bzw. dorsolateralen Flaps den ventralen vor. Dies liegt an der Nähe zum Schwellkörper und der besseren Blutversorgung. In der membranösen Harnröhre kann man entweder offen oder endoskopisch eine primäre Anastomose versuchen. Hier kann aufgrund eines vorausgegangenen Beckentraumas die Blutversorgung eventuell eingeschränkt sein (Stack and Schlossberg, 1998).

Neben den traumatischen Strikturen kann es auch nach transurethraler Resektion der Prostata bei 0,5-11% der Patienten postoperativ zu einer Striktur kommen. Die schonenste Maßnahme bei transsphinkteren Strikturen ist die Dilatation der Harnröhre. Skrotal- und Penislapptechiken mit Einsatz eines artifiziellen Sphinkters können hier ebenfalls in Betracht gezogen werden (Zinman, 1998, Bader et al., 2010).

5. Radioaktive Bestrahlung

5.1. Strahlentherapie allgemein

Klinisch relevante Arten ionisierender Strahlungen sind zum einen die elektromagnetische Strahlung (Gammastrahlung, Röntgenstrahlung) und zum anderen die Partikelstrahlung (Elektronen, Protonen, Neutronen, Alphastrahlung, schwere Ionen). Wichtig bei der Anwendung der Strahlentherapie ist die biologische Wirksamkeit der ionisierenden Strahlung der verschiedenen Arten trotz gleicher Energiedosis. Die Unterschiede in der biologischen Effektivität in Bezug auf die Qualität und die Quantität der Strahlenschäden beschreibt die relative biologische Wirksamkeit (RBW) (Lohr and Wenz, 2007).

Die Strahlendosis (= die pro Masse absorbierte Energie) wird in der Einheit Gray (1 Gy = 1J/kg) angegeben. In vielen Studien wird allein die Aktivität des radioaktiven Stoffes in Becquerel (Bq) oder Curie (Ci) genannt.

Die Methoden der Strahlentherapie teilt man nach dem Abstand zwischen Strahlenquelle und Zielvolumen ein. Bei der Teletherapie (griechisch = fern, weit) besteht eine größere Distanz zwischen zu bestrahlendem Gewebe und der Strahlenquelle (mehrere cm bis zu einem Meter), bei der Brachytherapie (griechisch = nah, kurz) erfolgt die Bestrahlung unmittelbar (wenige mm bis cm), die Radionuklidtherapie setzen auf der Zellebene an (Richter and Feyerabend, 2002).

Eine Strahlentherapie hängt nicht nur von der Gesamtdosis ab sondern auch von den zeitlichen Abläufen im Gewebe während der Bestrahlung. Zellen sind in den verschiedenen Stadien des Zellzyklus unterschiedlich strahlensensitiv. Die protrahierte Bestrahlung (Bestrahlung über einen längeren Zeitraum) nützt andere Mechanismen als die Einzelbestrahlung. Wird protrahiert oder fraktioniert bestrahlt, kann sich spät reagierendes Gewebe besser erholen und wird dadurch mehr geschont (Wannenmacher, 2006).

5.2. Brachytherapie

Bei der Brachytherapie erfolgt die Abgabe einer bestimmten Dosis unmittelbar in das umliegende Gewebe. Der Dosisabfall in das angrenzende Gewebe ist steil, deshalb ist die Strahlenbelastung für gesundes und von den Strahlenquellen weiter entfernt liegendem Gewebe stark reduziert. Beta- (Strontium-90, Phosphor-32)

und Gammastrahler (Kobalt-60, Iridium-192) werden je nach medizinischer Indikation eingesetzt. Es gibt verschiedene Applikationsarten der Brachytherapie. Zum einen die intrakavitäre oder intraluminale Therapie. Hier werden die Strahlenquellen in vorhandenen Körperhöhlen neben den zu bestrahlenden Bereich eingesetzt. Bei der interstitiellen Therapie werden die Strahler direkt in das Gewebe implantiert. Wird die Haut oder Schleimhaut bestrahlt, spricht man von einer Oberflächentherapie. Zusätzlich unterscheidet man eine permanente und eine temporäre Implantation (Richter and Feyerabend, 2002).

Die zu applizierende Dosis der Strahlentherapie kann entweder als Einzeldosis, als fraktionierte Bestrahlung oder als protrahierte Bestrahlung verabreicht werden.

Man unterscheidet die LDR (Low-Dose-Rate) Brachytherapie mit 0,4-2 Gy/h, die MDR (Medium-Dose-Rate) Brachytherapie 2-12 Gy/h und die HDR (High-Dose-Rate) Brachytherapie mit mehr als 12 Gy/h. Die PDR (gepulste HDR) Brachytherapie mit 0,5 Gy/h und Pulslängen von 10 bis 30 min ist eine Sonderform der HDR (Lohr and Wenz, 2007). Für die Brachytherapie eignen sich nur wenige Strahler. Strahlenart, Halbwertszeit, Energie der Zerfallsprodukte und die Herstellbarkeit sind wichtige Kriterien bei der Auswahl eines geeigneten Radionuklids.

Die Energie der radioaktiven Teilchen wird in Elektronenvolt ($1 \text{ eV} = 1.60217646 \times 10^{-19} \text{ Joule}$) angegeben. Für die Brachytherapie werden Gammastrahler mit niedriger Energie ($< 100 \text{ keV}$) und daher geringer therapeutischer Reichweite und Elektronenstrahler mit einer Energie über 1 MeV gewählt. Die Elektronenstrahler haben eine geringe Reichweite von wenigen mm und sind somit eher für die Bestrahlung kleinerer Gewebevolumina in unmittelbarer Nähe zu empfehlen (Schubert, 2007).

Die Brachytherapie wird zur Behandlung von Cervixkarzinomen, Prostata-, Haut- und Brustkrebs eingesetzt. Aber auch in der Kardiologie und der HNO findet die Brachytherapie mit verschiedenen Radionukliden ihren Einsatz. In der Urologie kommt die LDR-Brachytherapie mit den permanent implantierten „Seeds“ in der Behandlung des Prostatakarzinoms zum Einsatz, andererseits werden diese Tumoren auch im Afterloading-Verfahren mit der HDR-Brachytherapie behandelt (Wannenmacher, 2006).

5.3. Radioaktivität und dessen Zellwirkung auf benigne Erkrankungen

Neben der Tumorthherapie gehört die Bestrahlung von gutartigen Krankheiten in der modernen Medizin zum Standard. Die Strahlentherapie wird erfolgreich für eine Reihe von benignen Erkrankungen eingesetzt (Ekzeme, Psoriasis, Osteoarthritis, Spondylitis, Restenoseprophylaxe). Die Dosis ist im Vergleich zu Dosen, wie sie in der Tumorthherapie verwendet werden deutlich geringer (Trott, 2008).

Die genauen Mechanismen der Strahlentherapie bei gutartigen Erkrankungen sind aktuell nicht bis ins Detail erforscht. Die Prozesse, die durch die Bestrahlung allgemein beeinflusst werden, spielen sich in mehreren Phasen des Zellzyklus und auf der molekularen und zellulären Ebene ab (Richter and Feyerabend, 2002).

- Der physikalische Prozess: Absorption der Strahlenenergie und dadurch induzierte Ionisation, Molekülanregung und Wärmeabgabe
- Der physikalisch-chemische Prozess: direkte (organische Verbindungen) oder indirekte Molekülschäden (Radikale)
- Der biochemische Prozess: Veränderungen an Molekülen durch Oxidation, Hydroxylierung, Reduktion usw.
- Der biologische Prozess: morphologisch und funktionelle Veränderungen der Zellen durch die Strahlung

Die Strahlentherapie erzielt antiproliferative und immunomodulatorische Effekte (Gesamtdosen ab 10 Gray und mehr), antiinflammatorische (Gesamtdosen von 2 bis 6 Gray), analgetische und funktionelle (Modulation der Genexpression bei Dosen unter 2 Gray) Effekte (Trott and Kamprad, 1999).

Die Wirkung der ionisierenden Strahlung im Entzündungsprozess beruht auf der verminderten Bildung von Wachstumsfaktoren (z.B. TGF- β , PDGF) und inflammatorischen Zytokinen (z.B. IL-1, TNF-alpha). Die Entzündungskaskade wird moduliert. Eine Vielzahl an Zellen, die am Entzündungsprozess teilnehmen, wird durch die Bestrahlung beeinflusst. Bei Granulozyten kommt es bei einer Bestrahlungsdosis von 1,5 Gy zu einem signifikanten Anstieg an Zellen, bei Dosen von 3,5 bis 4 Gy jedoch zu einem Abfall. Lymphozyten sind unterschiedlich radiosensitiv. Aktivierte Lymphozyten sind relativ unempfindlich gegenüber Strahlung, während ruhende Lymphozyten schnell nach der

Bestrahlung die Apoptose einleiten (Trott, 2008, Trott and Kamprad, 1999). Diesen Effekt nutzt auch die präoperative Bestrahlung vor der Implantation einer Hüft-Totalendoprothese (TEP) aus. Die präventive Bestrahlung soll die heterotope oder ektope Ossifikation (Entstehung von Knochengewebe an einer Stelle, welches normalerweise nicht ossifiziert) verhindern. Tendenziell scheint diese Methode einen Vorteil gegenüber der alleinigen Behandlung mit NSAIDs zu haben. Wichtig ist hierbei, dass die Bestrahlung wenige Stunden präoperative verabreicht wird (Koelbl, 2008). Makrophagen und Monozyten produzieren bei geringer Strahlendosis (0,3-0,6 Gy) weniger Stickstoffmonoxid als bei höherer Strahlendosis (5-10 Gy). Stickstoffmonoxid, welches auch von Endothelzellen produziert wird, ist ein zentraler Entzündungsmediator (Trott, 2008, Trott and Kamprad, 1999). Hildebrand et al. (2006) empfehlen eine Gesamtdosis von 3-5 Gray bei akuten und bis zu 12 Gray bei chronischen entzündlichen Erkrankungen (Hildebrandt, 2006). Die Population der glatten Muskelzellen überlebt bei einer Bestrahlung mit 8-13 Gy zu 0,01-1%. Allerdings können überlebende glatte Muskelzellen je nach Proliferationspotential zu einem späteren Zeitpunkt zu einer Restenose führen (Trott, 2008).

Die Bestrahlung führt nicht zu einer vollständigen Hemmung, sondern nur zu einer verzögerten Wundheilung (Trott, 2008).

10-18 Gray Gesamtdosis werden bei hypertrophen Gewebeerkrankungen eingesetzt (Olschewski, 2006b).

Das Fibroblasten-Fibrozytensystem wird durch eine Bestrahlung verändert. Es besteht aus einem Vorläuferzellenpool, den Fibroblasten (MF = mitotische Fibroblasten), und einem Funktionszellenpool, den Fibrozyten, auch postmitotischen Fibroblasten (PMF) genannt (PMFIV, PMFV, PMFV1). Die Vorläuferzellen (MF 1-3) haben eine unterschiedliche Teilungskapazität. MF 1 und MF 2 teilen sich mehr als MF 3. MF 3 haben das Potential zur Differenzierung. MF 1 und MF 2 werden durch die Bestrahlung in ihrer Proliferation gehemmt, wohingegen MF 3 durch die Bestrahlung zur Differenzierung in die postmitotischen Stadien der Fibrozyten angeregt wird. Nach der Bestrahlung ist das Verhältnis der Fibroblasten im späteren Stadium zu den Fibroblasten im früheren Stadium erhöht. Die durch die Bestrahlung zur Differenzierung veranlassten Fibroblastenstadien haben eine kürzere Lebensdauer und eine 5-8fach höhere Kollagenproduktion. Zudem nimmt man an, dass die

Vorläuferstufen der Fibroblasten, welche die Bestrahlung überlebt haben, sich schneller differenzieren können als vor der Radiotherapie (Herskind et al., 2000, Rodemann, 2006, Trott, 2008).

Schon 1957 stellten Puck et al. fest, dass durch eine Betastrahlung Fibroblasten *in vitro* neben der Differenzierung auch in ihrem Wachstum gehemmt werden. Durch die Bestrahlung kann auf zellulärer Ebene die Proliferation von Zellen verhindert sowie die Produktion von neuen Zellen zeitweise reduziert werden (Kirwan et al., 2003). Auch Bumann et al. (1995) stellen in *in-vivo* Versuchen fest, dass die ionisierende Strahlung entweder als fraktionierte Bestrahlung (0.6 und 1.0 Gray, 10x) oder als Einzelbestrahlung mit bis zu 10 Gray den gleichen Effekt auf die Proliferationshemmung und die Differenzierung der Fibroblasten hat (Bumann et al., 1995). Bei einer Gesamtdosis von 3 Gray konnten *in vivo* die MF 1 und 2 deutlich reduziert werden. Niedrig dosierte Bestrahlung (0,6 bis 1,0 Gy in Einzeldosen) soll die Entstehung von Myofibroblasten hemmen (Rodemann, 2006).

Die Brachytherapie greift nicht gezielt an einem pathophysiologischen Weg als Ursache einer Narbenbildung ein. Sie erzeugt einen Wachstumsstopp (Tepe, 2004). Proliferierende Zellen sind empfänglicher für radioaktive Bestrahlung als ruhende Zellen (Hehrlein et al., 1995).

Nicht alle Bestrahlungsdosen haben den erwünschten Effekt des Proliferationsstopps erzielt. Einige *in vivo* Studien berichten auch über eine eher überschießende Reaktion des Gewebes, welche sich trotz anfänglich positiver Entwicklung als Spätfolge zeigt (Bertrand et al., 1999).

Zu den unerwünschten Effekten der Bestrahlung gehört auch das Phänomen des „Edge effects, des Candy-Wrapper oder des Kanteneffekts“. Dieses tritt beim Einsatz radioaktiver Implantate in den Koronararterien nach Aufdehnen der Gefäße an den Enden der Stents auf. Es kommt es an den proximalen und distalen Enden der Implantate zur Hyperproliferation des Gewebes. Man nimmt an, dass die Proliferation des Gewebes durch den steilen Dosis-Abfall der Low-dose Bestrahlung in Kombination mit dem Gewebeschaden zustande kommt. Die implantierten Stents überdecken nicht den gesetzten Schaden (Ballonierung der Gefäße) über die gesamte Länge des Gefäßes. Die Low-dose Radiation (+/- 2 Gy) kann die metabolische Aktivität von verschiedenen Zellen aktivieren (z.B. durch

Modulation der Genexpression) während eine Dosis über 10 Gray antiproliferatorische Effekte aufweist. Im Bereich dazwischen kommt es zu einem paradoxen Gewebezuwachs. Brachytherapien können im Zusammenhang mit der chronischen mechanischen Belastung einen Gewebezuwachs begünstigen. Auch an nicht verletzten Gewebe kann eine LDR-Therapie zur Proliferation führen (Van der Giessen et al., 2001, Voisard et al., 2006)

In der Brachytherapie der Herzkranzgefäße wurden seit 1992 klinische Studien zur Dosisfindung von Gamma- und Betastrahlern gemacht. Im Allgemeinen senkt die Strahlentherapie im Vergleich zu den Kontrollgruppen das Risiko der In-stent-Restenose, allerdings traten bei den bestrahlten Gruppen immer wieder Kanteneffekte auf. Auch Betastrahlungen mit Betastrahlern nach „De novo“-Läsionen führten zu enttäuschenden Ergebnissen (Baumgart, 2002).

Wichtig ist auch das zentrierte Einsetzen der Implantate, um eine Homogenisierung im exakten Dosis-Volumen Bereich zu erzielen (Baumgart, 2002).

Zudem ist der Zeitpunkt, zu welchem mit der Bestrahlung begonnen wird (im Entzündungsprozess im Anfangsstadium) von großer Bedeutung, da sich die Zellen in den verschiedenen Phasen der Entzündung und der Proliferation unterschiedlich verhalten (Trott, 1994).

5.4. Beta-Strahler

Unter dem Begriff der Radioaktivität versteht man, dass instabile Isotope unter Aussendung einer Strahlung in ein anderes Isotop übergehen, dabei kann Strahlung emittiert werden. Man unterscheidet den Alpha-, Beta- und Gamma-Zerfall, je nachdem welche Art von Strahlung abgegeben wird. Die Betastrahlung kann entweder in Form der β^- -Strahlung oder β^+ -Strahlung ausgesendet werden (Richter and Feyerabend, 2002).

Nuklide mit einem Überschuss an Neutronen zerfallen über den β^- -Prozess. Ein Neutron des Kerns wandelt sich in ein Proton, ein negativ geladenes Elektron und ein Neutrino werden abgestrahlt (Richter and Feyerabend, 2002).

Betastrahlen (von 1-2 MeV) lassen sich mit einem einige Millimeter dicken Absorber (beispielsweise Aluminiumblech) gut abschirmen. Ein Teil der Energie wird in Röntgen-Bremsstrahlung umgewandelt. Um diesen Prozess zu verringern,

sollte das Abschirmmaterial möglichst leichte Atome aufweisen, also von geringer Ordnungszahl sein. Dahinter kann dann ein Schwermetall als zweiter Absorber dienen, der die Bremsstrahlung abschirmt.

5.5. Phosphor -32

Phosphor-32 zerfällt zu 100% im β^- -Zerfall. Phosphor-32 wird aus dem stabilen Phosphor-31 über Neutroneneinfang produziert. Das entstehende Phosphor-32 zerfällt mit einer Halbwertszeit von 14,26 Tagen unter Aussendung eines Elektrons mit maximal 1,7 MeV (Mega-Elektronenvolt) zum stabilen Schwefel-32 (Krieger, 2007, Grupen, 2003). Phosphor hat nur ein stabiles Isotop, das P-31 (siehe Abbildung 5).

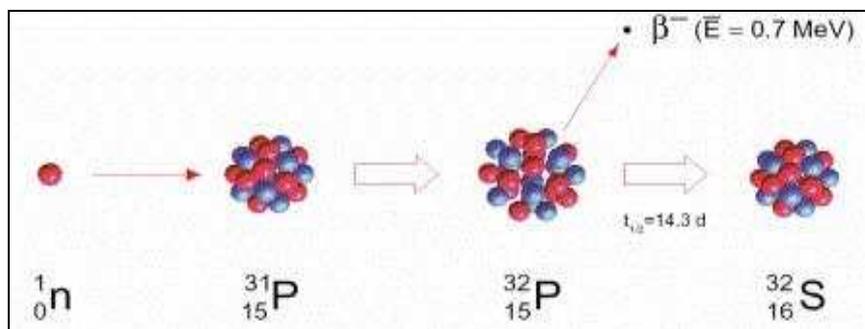


Abbildung 5. Zerfall von P-31 nach Neutronenbeschuss

Alle weiteren Isotope des Phosphors sind radioaktiv. Bis zu 95% der β^- -Strahlung werden in 3-4 mm Tiefe absorbiert (Laird et al., 1996, Grupen, 2003).

In Abbildung 6 ist ein direkter Vergleich der Dosisverteilung zwischen Phosphor-32 und dem Gammastrahler Jod-125 gezeigt. Bei einer Abstandsänderung von 1 mm ergibt sich für Phosphor-32 ein Dosisabfall um 80%. Diese kurze Reichweite schont das umliegende Gewebe, allerdings muss das zu bestrahlende Gebiet unmittelbar dem Implantat anliegen. Dies kann nur in einer Brachytherapie umgesetzt werden.

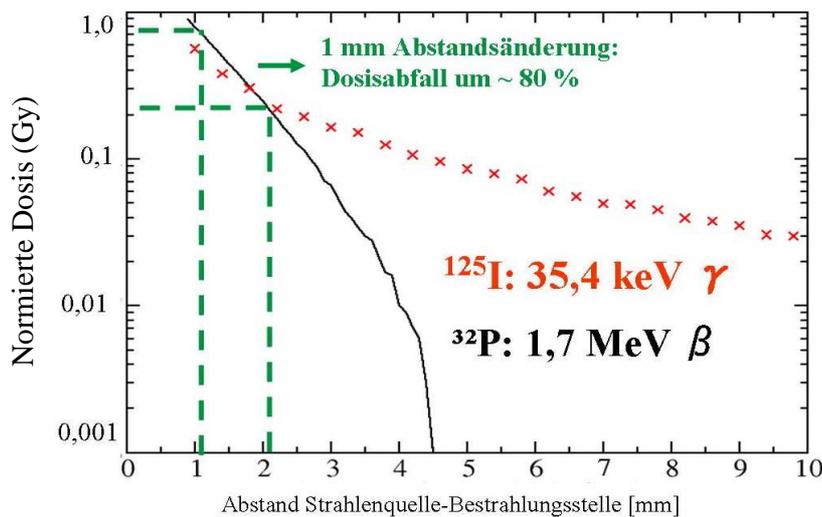


Abbildung 6. Abstand Strahlenquelle-Bestrahlungsstelle [mm] (Assmann, 2011)

5.6. Strahlentherapie in der Behandlung der Koronarstenose

Die Wirksamkeit von Betastrahlern (Phosphor-32, Yttrium-90, Strontium-90) und Gammastrahlern (Iridium-192) zur Behandlung der koronaren Restenose wurde in mehreren Studien nachgewiesen (Baumgart, 2002, Raizner et al., 2000, Waksman et al., 1995, Hehrlein et al., 1995).

Einen Vergleich der beiden Strahlenarten in der Effektivität der Behandlung gibt es nicht. Die empfohlene Strahlendosis für die koronaren Stents lautet 12-18 Gray in 2 mm Tiefe (Dietz et al., 2001). Unter 9 Gray kommt es laut Dietz et al. (2001) zu einer Stimulierung des Gewebewachstums. Eine Unterdosierung in Kombination mit einem verletzten Gewebe führt zu einer Hyperproliferation bzw. dem „Candy-wrapper-Effekt“. Zudem ist unklar, ob die Betastrahlung die Restenose nicht nur zeitlich verzögert, anstatt sie komplett zu verhindern (Dietz et al., 2001).

In der Bestrahlungsplanung ist es notwendig zu wissen, welche Dosis ein bestimmtes Zielvolumen erhalten muss: Müssen nur das Endothel oder auch tiefere Schichten, wie die *Media* oder die *Adventitia*, bestrahlt werden. Wichtig ist dabei die exakte Platzierung der Bestrahlung, um den „geographic miss“ (longitudinale Fehlplatzierung) zu verhindern (Baumgart, 2002).

5.7. Strahlentherapie zur Behandlung der Harnröhrenstrikturen

In der Urologie sind bisher nur wenige Studien zur Strahlentherapie in Bezug auf die Rezidivprophylaxe urethraler Strikturen publiziert.

Kröpfl et al. (2004) versuchen mittels HDR-Brachytherapie die Restrikturraten der Urethra zu senken. In dieser Studie wurden 15 Patienten mit rezidivierenden Harnröhrenstrikturen unterschiedlicher Lokalisation und Genese maximal 4 Stunden nach einer Urethrotomia interna innerhalb vier Stunden mittels HDR-Brachytherapie (192-Iridium-Quelle) bestrahlt. Die ersten 3 Patienten wurden an 3 postoperativen Tagen fraktioniert mit insgesamt 3 x 4 Gy behandelt, alle weiteren Patienten wurden mit 4 x 4 Gy bestrahlt. Alle Patienten waren bereits mindestens einmal bis maximal 20-mal vorbehandelt (Bougierung, Stent, Urethrotomia interna nach Sachse, Transplantate). Postoperativ lag der Harnkatheter eine Woche. Das Zielvolumen der Bestrahlung lag in 3 mm Gewebetiefe, d.h. in 1 mm Tiefe wurden 24 bis 32 Gy appliziert. Nach einer mittleren Beobachtungszeit von 24 Monaten waren 7 ohne Rezidiv. Bei 8 Patienten trat erneut ein Rezidiv auf, wobei der Zeitraum bis zum Strikturrezidiv im Mittel bei 8 Monaten lag. Die HDR-Brachytherapie war bei den Patienten erfolgreich, die eine kurzstreckige bulbäre Strikturen hatten (n = 2), bzw. eine 2 cm lange bulbäre Strikturen (n = 1), eine Anastomosenstriktur nach radikaler Prostatektomie (n = 2) und eine Blasenhalssenge nach transurethraler Prostataresektion (n = 2). 5 von 8 Patienten mit einem Rezidiv hatten eine bulbäre Strikturen (Kröpfl et al., 2004). Diese Studie zur Restrikturprohylaxe mit der HDR-Brachytherapie richtet sich nach den Strahlendosen, welche bei der Behandlung der Keloide und hypertrophen Narbenbildungen (10 - 18 Gy in 1 - 4 Einzeldosen) verabreicht wird (Olschewski, 2006a).

Neben Kröpfl et al. (2004) findet sich eine weitere Studie von Sun YH et al. (Sun et al., 2001), die ebenfalls nach transurethraler Schlitzung oder Resektion der Narbe eine HDR-Brachytherapie mit 192-Iridium durchführten. Es wurden hier 17 Patienten (Strikturlänge 0,8 - 1,5 cm, alle Patienten hatten mindestens 2-4 Urethrotomia interna Versuche bzw. Resektionen hinter sich, 4 Patienten Urethroplastiken), ab dem ersten Tag postoperativ fraktioniert in 2-3 Sitzungen je nach Länge und Schwere der Strikturen individuell angepasst bis maximal 10-15 Gy bestrahlt. Im Gegensatz zur Kröpfl et al. (2004) blieben in dieser Studie die postoperativen Katheter 3- 6 Wochen liegen. In einer Beobachtungszeit von 14 - 27 Monaten kam es nur bei einem Patient zu einem Rezidiv. Die Lokalisation der Strikturen der einzelnen Patienten bleibt in dieser Publikation ungeklärt.

Eine weitere Gruppe untersuchte den Effekt der ionisierenden Strahlung auf das

urethrale Gewebe mit einem mit Rhenium-188 gefüllten Ballon (Ballondilatation) nach Stentimplantation an der kaninen Harnröhre. Re-188 ist ein hochenergetischer Betastrahler mit einer Halbwertszeit von 17 Stunden. Das Ziel der Dosisabgabe in einer Gruppe (n = 5) war einmalig 20 Gy in 1 mm Tiefe des Gewebes und bei der zweiten Gruppe (n = 5) einmalig 40 Gy in 1 mm Gewebetiefe abgab. Als Kontrolltiere dienten weitere 5 Tiere mit implantierten Stent mit einer Ballondilatation ohne Bestrahlung. Der Ballon befand sich direkt nach Implantation für 180-480 Sekunden in der Urethra. Die Tiere wurden 12 Wochen nach der Stentimplantation euthanasiert. Die bestrahlten Tiere hatten im Vergleich zur Kontrollgruppe eine tendenziell verminderte Entzündungsreaktion im In-stent Bereich und eine tendenziell geringerer Epithelschicht im Out-stent Bereich. Die Schlussfolgerung dieser Studie war es, dass durch die Bestrahlung die Hyperplasie des Gewebes, die durch die Stentimplantation entsteht, reduziert werden kann (Shin et al., 2006).

6. Nebenwirkungen der Strahlentherapie

Neben der therapeutischen Strahlenwirkung gibt es auch unerwünschte Nebenwirkungen. Bei der Wirkung von ionisierenden Strahlen auf die Zellen kann man akute und chronische Strahlenschäden unterscheiden. Vor allem Zellen der Mitose und G2-Phase sind strahlensensibel. Die Bestrahlung führt zu DNA-Strangbrüchen und chromosomaler Aberration. Die Überlebenskurve der Zellen nach der Bestrahlung ist abhängig von der Dosisrate. (Thomas, 2002).

Je nach Zellart kommt es durch eine Bestrahlung entweder zum Verlust einer speziellen Eigenschaft (bei ausdifferenzierten Zellarten, wie z.B. Muskelzellen, Nervenzellen) oder zur Hemmung der Vermehrung (bei proliferierenden Zellen) (Perez et al., 2006).

Akute Nebenwirkungen der Strahlentherapie können entzündliche Reaktionen, Blutungen oder Schwellungen sein. Auch strahlenbedingte Fibrosen können auftreten. Eine weitere Nebenwirkung der Bestrahlung ist die Vaskulopathie. Durch die Bestrahlung kommt es an den kleinen und mittleren Gefäßen zu Endothelveränderungen, so dass Blutplasma in die Gefäßwände eintreten kann. Dies hat eine Fibrosierung und eine irreversible Intimafibrose zur Folge (Thomas, 2002). Nach experimentellen Studien wird die Toleranzdosis der Urethra (Dosisgrenze, ab welcher mit irreversiblen Schäden zu rechnen ist) bei über 80

Gray angenommen (Kröpfl et al., 2004).

Ein weiteres Risiko der Bestrahlung ist die Entstehung von sekundären Tumoren. Je nach Zielorgan unterscheidet sich das Risiko. Vor allem das Knochenmark muss bei der Bestrahlung von benignen Erkrankungen ebenso geschützt werden, wie bei der Tumorthherapie (Trott and Kamrad, 2006). Dieses Risiko ist aber bei der Brachytherapie der vorliegenden Studie minimal.

6.1. Strahlenfibrose

Die Strahlenfibrose ist ein komplexes Zusammenspiel verschiedener Faktoren. Im bestrahlten Gewebe wird TGF- β hochreguliert. TGF- β aktiviert zum einen die mesenchymale Zellproliferation und die Kollagenproduktion, zum anderen beeinflusst TGF- β die Immunabwehr (B-Zellen, T-Zellen, Natürliche Killerzellen), indem es diese Zellen hemmt. Makrophagen exprimieren ebenfalls TGF- β . Die Anzahl der postmitotischen Fibrozyten nimmt im bestrahlten Gewebe zu. Diese besitzen im Vergleich zu den Vorläuferstadien der Fibrozyten eine höhere Potenz Kollagen zu produzieren. Anstatt sich zu vermehren, produzieren die Fibroblasten im bestrahlten Gewebe vermehrt extrazelluläre Matrix. Dies führt zu einer Fibrose (Denham and Hauer-Jensen, 2002). Hypoxie, oxidativer Stress und die Entzündungsreaktion spielen bei der strahleninduzierten Fibrose eine Rolle (Yarnold and Vozenin Brotons, 2010).

7. Das Strikturinduktionsmodell der Urethra

Für das Harnröhrenstrikturmodell gibt es verschiedene technische Verfahren. Die Induktion einer Harnröhrenstriktur ist einerseits über extraurethrale Verletzungen (Quetschungen, Durchtrennen, Inzision der Harnröhre), andererseits über interne Manipulation möglich (Singh and Blandy, 1976, Scott and Foote, 1980).

Meria et al. (1999) setzten bei 18 Kaninchen der Rasse New Zealand White eine zirkuläre 3 bis 5 mm breite, zirkuläre Verletzung im Bereich der bulbären Urethra mit Hilfe eines Elektrokauters. Das Gewebe wurde bei 40 Watt bis zum Erreichen einer Ulzeration und Koagulation behandelt. Am Tag 15 und 30 wurden die Tiere einer optischen Kontrolle der Strikturentwicklung unterzogen (Videoendoskopie, Zystogramm). 50% der Tiere entwickelten bis zum Tag 30 eine bulbäre Stenose mit signifikanter Lumeneinengung um mehr als 50%. Die hohe Fehlerquote erklären Meria et al. dadurch, dass die Wundheilung der Kaninchenurethra durch

das gut durchbluteten *Corpus spongiosum* im Gegensatz zum Mensch verbessert ist (Meria et al., 1999).

Andersen et al. (2003) erzeugten auch am Kaninchenmodell (New Zealand White Kaninchen, n = 15) eine 2 bis 3 mm lange Resektionswunde bei 2 bis 10 Uhr am Übergang vom spongiösen zum bulbären Bereich der Urethra. Die Inzision erfolgte hierbei mit einer elektrischen Schlinge und ging bis in das periurethrale Gewebe der Harnröhre. Am Tag 30 hatten 12 der 15 männlichen Kaninchen eine Strikturentwicklung. Die Strikturentwicklung der Urethra wurde in dieser Studie mit Hilfe einer Urethrographie und einer Impedanz-Planimetrie dargestellt (Andersen et al., 2003b).

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Zielsetzung und Problemstellung

Als Folgeprojekts des „RadBioMat-Projekts“, welches sich mit der Herstellung der Phosphor-32 beschichteten Stents und deren Anwendung in der Nasennebenhöhlenchirurgie und der Glaukombehandlung befasst hat, werden im Rahmen des „BetaMod-Projekts“ die beschichteten Implantate in anderen Fachgebieten der Medizin eingesetzt (Held, 2007, Schubert, 2007).

Ziel der folgenden Untersuchung ist die Erprobung der Wirksamkeit eines mit Phosphor-32 beschichteten Implantats in Bezug auf die Rezidivbildung bei Harnröhrenstrikturen. Postoperativ kommt es nach der Behandlung von Harnröhrenverengungen immer wieder zu unbefriedigenden Ergebnissen für den Patienten mit hohen Rezidivraten, besonders nach mehrmaliger Behandlung. Daher soll die vorliegende Arbeit die Frage beantworten, ob durch eine zusätzliche Strahlentherapie nach einer Urethrotomia interna eine Verminderung der Narbenkontraktur und Hyperproliferation des Gewebes bewirkt werden kann. Die Strahlentherapie wird in Form einer Brachytherapie mit Hilfe eines radioaktiv beschichteten Katheters durchgeführt, wobei der Wunsch nach bestmöglicher Schonung des gesunden Gewebes besteht.

Da die Idee eines Strahlen emittierenden Dauerkatheters in Kombination mit einer Urethrotomia interna ein neuer Therapieansatz ist gibt es bisher keinerlei Vorversuche oder Erfahrungen dieser Art, weshalb die ideale Strahlendosis innerhalb des Versuches ermittelt werden muss. Dies geschieht im Sinne einer explorativen Orientierungsstudie. Im Rahmen des „BetaMod-Projekts“ soll das Anwendungsspektrum von betastrahlenden, individuell oberflächenmodulierten Implantaten auch an ungelösten Problemstellungen anderer Fachrichtungen angewandt werden. So sollen in separaten Untersuchungen zusätzlich die Einsatzmöglichkeiten dieser Implantate in der Gastroenterologie (Otto, 2011) und in der Augenheilkunde geprüft werden.

Der Antrag auf Genehmigung eines Tierversuchsvorhabens nach § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes wurde am 19.8.2008 mit dem Aktenzeichen 55.2-1-54-2531-69-08 und dem Titel "Untersuchung der prophylaktischen Wirkung von

Betastrahlern (radioaktiv beschichtete Dauerkatheter) im Sinne einer Brachytherapie, auf die Restrikturierungsrate nach Harnröhrenschlitzung am Tiermodell" von der Regierung von Oberbayern genehmigt.

2. Das „BetaMod-Projekt“ – ein interdisziplinäres Forschungsprojekt

Die vorliegende Untersuchung wird im Rahmen des „Beta-Mod-Projekts“ (<http://www.betamod.de/>) durchgeführt. Innerhalb des Teilprojekts „Urologie“ werden die fachspezifischen Bereiche von verschiedenen Instituten betreut:

Studiendurchführung und Betreuung des urologischen Bereichs : Dr. med. M. J. Bader, Dr. med. P. Weidlich, Urologische Klinik und Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München, Campus Großhadern (Leitung: Prof. Dr. med. C. Stief)

Anleitung zur Probenaufbereitung: MTA Kathrin Siegrist (Leitung des Instituts: Dr. rer. nat. Ronald Sroka, Laser-Forschungslabor des Klinikums Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München)

Lasertechnik: Dr. rer. nat. Ronald Sroka, Laser-Forschungslabor des Klinikums Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München

Implantatherstellung, strahlenphysikalische Belange: PD Dr. rer. nat. habil Walter Assmann, Lehrstuhl für Experimentalphysik/Kernphysik Fakultät für Physik der LMU München in Garching

Betreuung der histopathologischen Auswertung: PD Frau Dr. med. D. Mayr, Pathologisches Institut der medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, Campus Großhadern

3. Untersuchungsgut

3.1. Die Wahl des Kaninchens als Versuchstier

Aufgrund der anatomischen Gegebenheiten werden Tierversuche an männlichen ausgewachsenen New Zealand White Kaninchen durchgeführt.

Die Harnröhre des Kaninchens hat den Durchmesser eines 1-jährigen Jungen und ist daher mit den Instrumenten der Pädiatrie gut zu behandeln. Der histologische Aufbau der Kaninchenurethra ist der des Mannes durch das flache Urothel und

sein blutgefäßreiches, spongiöses Gewebe ähnlich (Andersen et al., 2003b, Meria et al., 1999, Andersen et al., 2003a).

3.2. Versuchstiere und Haltungsbedingungen

18 männliche Kaninchen der Rasse New Zealand White werden für die Untersuchungen aus der spezifisch keimfreien Aufzucht (Firma Charles River Wiga GmbH) verwendet. Die Tiere werden mit einem Durchschnittsalter von 3 Monaten und einem Anfangsgewicht im Mittel von 3853 Gramm (3180-4020 Gramm) in den Tierversuch aufgenommen. Während der Versuchsdauer von 9 Wochen entwickeln die Kaninchen ein Endgewicht von im Mittel 4560 Gramm (4000-4950 Gramm). Nach einer Akklimatisierungsphase von mindestens 7 Tagen werden die Kaninchen in den Versuch aufgenommen.

Die Haltung der Tiere erfolgt nach der aktuellen EU Richtlinie (86/609). Die Haltungsbedingungen sind für alle Tiere des Versuchsaufbaus zu jeder Zeit standardisiert. Die Haltung erfolgt aus versuchstechnischen Gründen in Einzelboxen. Die Grundfläche der Käfige beträgt 60x60 bis 60x100 cm² pro Tier. Als Einstreu dient Heu. Die Tiere werden unter den konventionellen Hygienebedingungen sowie mit einem Hell/Dunkel-Lichtprogramm und Dämmerlichtphasen gehalten. Der Tag-Nachtrhythmus ist automatisiert im Sinne eines 12 Stunden Rhythmus. Im Raum der Kaninchenhaltung herrschen konstante Temperaturen von 16° Grad bis 19° Grad und eine relative Luftfeuchtigkeit von 50-60%. Jedes Tier erhält täglich neben pelletiertem Futter Heu und Wasser zur freien Verfügung. Die Wasserflaschen werden während des Versuchs täglich kontrolliert und mit ungesäuertem Leitungswasser gefüllt. Nagemöglichkeiten (Nageholz) werden an die Käfige angebracht. Zusätzlich werden die Tiere mit Karotten, Haferflocken und Äpfeln versorgt. Während der Phasen ohne Katheter erhalten die Tiere Auslauf.

3.3. Studiendesign

Der Versuchszeitraum eines Durchlaufs erstreckt sich über 63 Tage. Während des gesamten Versuchs hat jedes Tier 4 Operationstage (Tag 0, Tag 28, Tag 35, Tag 63) und wird nach den Angaben im Studienprotokoll behandelt (siehe Abb. 7). Die Studie wird verblindet, randomisiert und kontrolliert durchgeführt. Hat sich 4 Wochen nach der Strikturinduktion mit dem dafür neu etablierten Modell (Siehe Kapitel IX. 3.2) eine Harnröhrenstriktur ausgebildet, kann mit der Therapie

begonnen werden. Nach erfolgter Urethrotomia interna nach Sachse wird den insgesamt 18 männlichen Kaninchen postoperativ der Spezialkatheter eingesetzt. Die Kathetereinlage erfolgt in 3 Gruppen zu je 6 Tieren (0 Gy, 15 Gy, 30 Gy). Nach einwöchiger Kathetereinlage folgt am Tag 35 die Entfernung der Katheter und am Tag 63 die Euthanasie der Versuchstiere. Die gesamte Versuchsgruppe (18 Tiere) wird im Weiteren als „Urethrotomia interna- Gruppe“ angesprochen.

An allen Operationstagen werden bildgebende Verfahren zur Kontrolle des Therapieverlaufs eingesetzt. Zum einen werden dynamische Kontrastmittelaufnahmen unter Röntgenkontrolle (Zystourethrogramme) angefertigt, zum anderen wird an den jeweiligen Tagen eine Endoskopie der Harnröhre und der Blase durchgeführt.

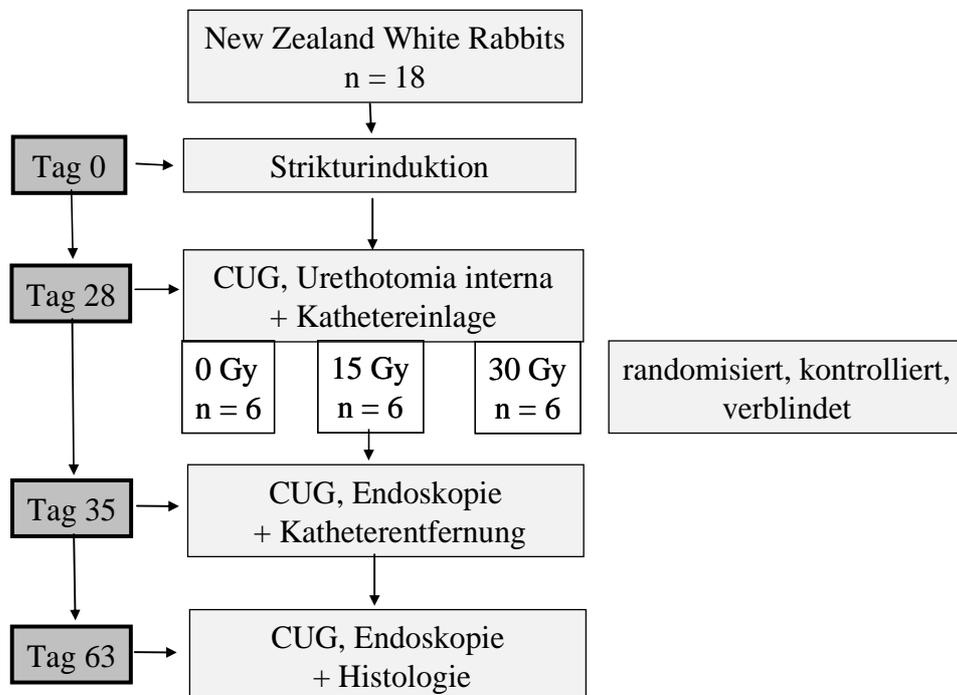


Abbildung 7. Studiendesign der „Urethrotomia interna-Gruppe“ Tag 0 bis Tag 63

4. Die „De novo Gruppe“

Neben den 18 Tieren der „Urethrotomia interna Gruppe“ werden innerhalb des „BetaMod-Projekts“ 2 weitere Fragestellungen mit den dazugehörigen Gruppen angeschlossen. Hierbei werden weitere 18 männliche Kaninchen der Rasse New Zealand White Rabbit aus den gleichen Haltungs- und Versuchsbedingungen für die „De novo Gruppe“ eingesetzt und 3 weitere männliche Kaninchen der Rasse New Zealand White Rabbit für die sogenannte „native Gruppe“.

Bei der „De nuovo-Gruppe“ (n = 18) wird am Tag 0 die Striktur mit der gleichen Methode wie bei der „Urethrotomia interna-Gruppe“ induziert. Allerdings erhalten diese Tiere am Tag 0 nach der Strikturinduktion den Spezialkatheter. Die Einlage erfolgt wie in der „Urethrotomia interna Gruppe“ randomisiert, kontrolliert und verblindet. 6 Tiere erhalten einen 0-Gy-Katheter, 6 Tiere einen 15-Gy-Katheter und weitere 6 Tiere einen 30-Gy-Katheter. Am Tag 7 werden die Katheter entfernt und die Tiere am Tag 35 euthanasiert.

5. Radiotherapie von Normalgewebe (Urethra)

Zudem wird eine Gruppe von 3 Tieren („native Gruppe“) untersucht, deren Urethra ohne eine induzierte Verletzung bestrahlt wird. Diese Tiere erhalten am Tag 0 keine Strikturinduktion. Hier wird allein ein radioaktiver Katheter für eine Woche in die Harnröhre eingelegt. Am Tag 7 wird der Katheter entfernt und die Tiere am Tag 35 euthanasiert. 2 Tiere erhalten einen Katheter mit der Gesamtdosis 60 Gy und ein Tier erhält einen Katheter mit der Gesamtdosis 15 Gy. Diese Dosis wird, wie bei den anderen Versuchen, im Sinne einer LDR-Brachytherapie auf die unbehandelte Urethra innerhalb einer Woche abgegeben. Hierbei möchte man die Strahlentoleranz der Urethra in vivo ermitteln.

Bildgebende Verfahren, wie dynamische und statische Röntgenaufnahmen mit Kontrastmittel (CUG) und Endoskopien der Urethra werden an allen OP-Tagen angefertigt. Die Gewebeentnahme und Aufbereitung, die histopathologische und histomorphometrische Auswertung erfolgt analog zur „Urethrotomia interna Gruppe“. Die Auswertung und Darstellung der Ergebnisse der beiden Gruppen erfolgt nicht im Rahmen dieser Dissertation.

6. Versuchsvorbereitung

6.1. Der radioaktive Stent

Zusammen mit den Industriepartnern (*Firma Acri.Tec®, Firma Seidel, Firma Urotech, Firma NTTF Coatings) und der Arbeitsgruppe für Medizinphysik der Fakultät für Physik, LMU München (PD Dr. rer. nat. habil Walter Assmann) wurden die radioaktiven Stents/Katheter im Rahmen des „BetaMod-Projekts“ entwickelt.

Eine geeignete Phosphorverbindung (Phosphor-31) wird in ein Polymergranulat

eingemischt und eine dünne Folie extrudiert. Nach anfänglichen Schwierigkeiten konnte eine sehr gleichmäßige Phosphorverteilung im Polymer erreicht werden, eine Voraussetzung für die geforderte Dosishomogenität. Die Folien sind 50µm dick und enthalten etwa 10% Phosphoranteil. Das Polymer, PEEK (Polyetheretherketon) ist biokompatibel und strahlenbeständig. In der Garchingener Neutronenquelle (FRM II) wird die Folie durch Neutroneneinfang aktiviert und auf die üblicherweise verwendeten Harnkatheter mit einer Größe von 14 Charr. aufgewickelt (Blasenverweilkatheter, 14 Charr., Rüsch-Care, Teleflex Medical GmbH). Die Folien werden mit 2 Schrumpfschläuchen abgedeckt. Am proximalen und distalen Ende werden Röntgenmarkierungen angebracht. Insgesamt sind die Folien 4 cm lang und enthalten anfänglich eine, später im Versuch zwei röntgenstrahlendichte Markierungen. Durch diese lässt sich die genaue Lage der eingelegten Implantate röntgenologisch darstellen.



Abbildung 8: Aufbau des beschichteten Katheters

Die Implantate stellen eine „geschlossene radioaktive Quelle“ dar. Die Dichtigkeit der Implantate wurde in umfangreichen Auswachttests gründlich getestet. Die austretende Aktivität befindet sich im Zehntelpromillebereich und ist daher gesundheitlich unbedenklich.

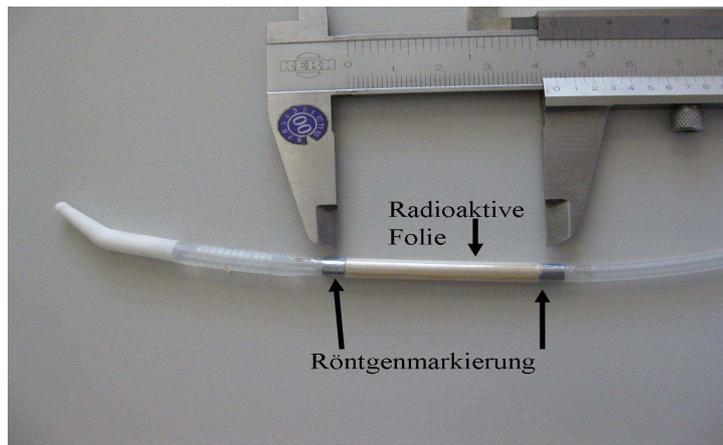


Abbildung 9. Radioaktives Implantat auf einem Blasenkatheter

Das Handling der radioaktiven Stents im gesamten „BetaMod-Projekt“ geschieht unter strenger Einhaltung der Vorschriften der Strahlenschutzverordnung. Das radioaktive Material wird in den dafür vorgesehenen Räumen gelagert und unterliegt der ständigen Kontrolle des Strahlenschutzbeauftragten. Bis zum Einsatz werden die Katheter, eingeschweißt in Folien, in einem speziell dafür angefertigten Plexiglaskasten in ausgezeichneten Strahlenschutzräumen aufbewahrt (Verordnung über den Schutz vor Schäden durch ionisierende Strahlen, 2001).

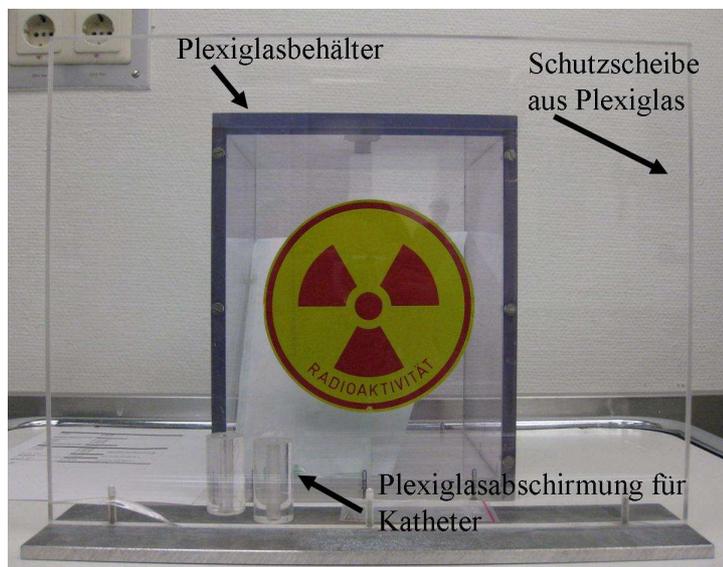


Abbildung 10: Strahlenschutzvorrichtungen

Plexiglas von 10 mm Wandstärke eignet sich für die Abschirmung der radioaktiven Strahlung. Plexiglas hat eine niedrige Ordnungszahl und die austretende Bremsstrahlung in Form von Röntgenstrahlen ist proportional zur

Kernzahl des zu passierenden Materials und der Energie der Betateilchen. Die austretende Bremsstrahlung überschreitet die Hintergrundstrahlung nicht. Während der Plexiglaskasten (in welchem sich die Katheter vor der Einlage befinden) im Operationsbereich steht, wird eine zusätzliche Abschirmung aus Plexiglas vor den Behälter gestellt. Alle Personen, die an den klinischen Versuchen des „BetaMod-Projekts“ teilnehmen, müssen mit Dosimetern ausgerüstet sein. Diese werden wie üblich am Körper getragen. Zudem kommen Fingerringdosimeter zum Einsatz. Der Abstand zum Implantat sollte so groß wie möglich sein. Während der Implantation wird die radioaktive Folie mit einer Plexiglasabschirmung in Form eines Zylinders als Einführhilfe versehen. Diese Vorrichtung schützt die Personen, die in direktem Kontakt mit dem Katheter stehen.



Abbildung 11. linke Abb.: Plexiglashülle zum Einführen und Entfernen des radioaktiven Katheters, rechte Abb.: Einführen des Katheters am Tier

Während der Operation wird die Strahlungsabgabe des Beta-Strahlers immer wieder routinemäßig mit Geigerzählern überprüft (Kontaminations-Monitor LB122, EG&G Berthold, Bad Wildbad).

6.1.1. Die Dosisverteilung im Zielvolumen

Das Zielvolumen befindet sich in 1 mm Gewebetiefe der Harnröhre. Von der Kathetermitte bis zur Oberfläche des beschichteten Katheters sind es ca. 2,5 mm. Die gewünschte Dosis wird von der Kathetermitte aus in 3,5 mm Abstand appliziert. An der Oberfläche des Katheters herrscht eine höhere Dosis (Kontaktdosis), die etwa einen Faktor 4 über der Dosis in 1 mm Entfernung liegt.

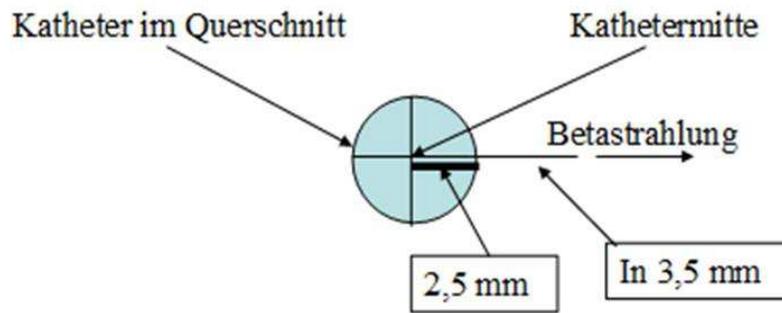


Abbildung 12: Querschnitt des Katheters und Lage des Zielvolumens (ZV)

Für die Strahlentherapie ist es wichtig, das „Target“ der Bestrahlung zu bestimmen. In welcher Gewebetiefe muss bestrahlt werden, um den gewünschten Effekt zu erzielen? Bereits nach 6 mm gibt es keine relevante Strahlung mehr, wie in der Abbildung 13 zu sehen ist. Deshalb sind die Nebenwirkungen, wie sie bei anderen Strahlentherapien zum Beispiel bei der Bestrahlung mit γ -Strahlern vorkommen, allein aufgrund der geringen und zudem festen Reichweite lokal begrenzt.

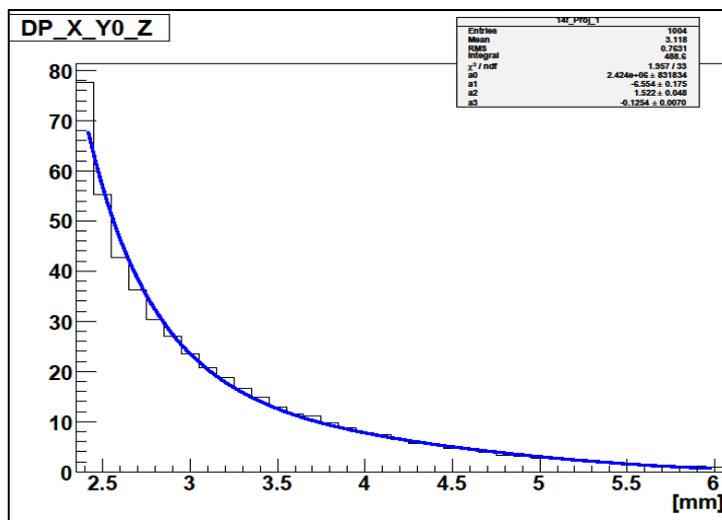


Abbildung 13. Dosisverteilung im Zielvolumen (Ordinate: Dosis in Gy eines ^{14}C -Katheters mit einer Phosphor-32 Folie im Abstand von der Kathetermitte)

6.2. Strikturinduktionsmodell

Zuerst wird versucht, die Harnröhrenstriktur mit Hilfe eines ^{14}C -Kinderresektoskops zu induzieren (Abbildung 14) wie dies bereits in der Literatur beschrieben wurde (Andersen et al., 2003b).



Abbildung 14. Strikturinduktion durch Resektion

Im Rahmen des „BetaMod-Projekts“ wurde ein neues Strikturinduktionsmodell entwickelt und etabliert, das auf einer Laserkoagulation basiert.

Zur Strikturinduktion in der *Pars prostatica* der Harnröhre wird eine radial abstrahlende Lasersonde (365 μm bare fiber, 360°radiale Abstrahlung), wie sie zur endoluminalen Lasertherapie der Varikosis eingesetzt wird, angewendet (Schmedt et al., 2010). Diese spezielle Sonde kann über den Arbeitskanal eines starren Charr.14-Kinder-Zystoskopes mit einer 0°-Optik (27033AA Miniatur Geradeausblick-Optik, 0°, 20 cm, mit eingebauter Fiberglas-Lichtleitung, Karl Storz GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland; 27033U Urethrotom-Schaft mit Luer-Lock Hahn, 8 Charr. mit Obturator, Karl Storz GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland) unter Sicht an den Ort der gewünschten Schädigung gebracht werden. Die Verletzung wird 1 bis 2 cm distal des *Colliculus seminalis* gesetzt. Die Laserenergie kann entweder im Sinne einer dynamischen oder statischen Sonde abgegeben werden. Ein zirkuläres Pilotlicht zeigt die Stelle der Energieeinwirkung, so dass die Position des Laserschadens gut gesteuert werden konnte. Nach Platzierung der Sonde (linke Abbildung 15) wird die Spülflüssigkeit gestoppt und das Gewebe der Urethra legt sich unter Sichtkontrolle an die Laserfaser an. Dann beginnt der Operateur mit der Laseranwendung.

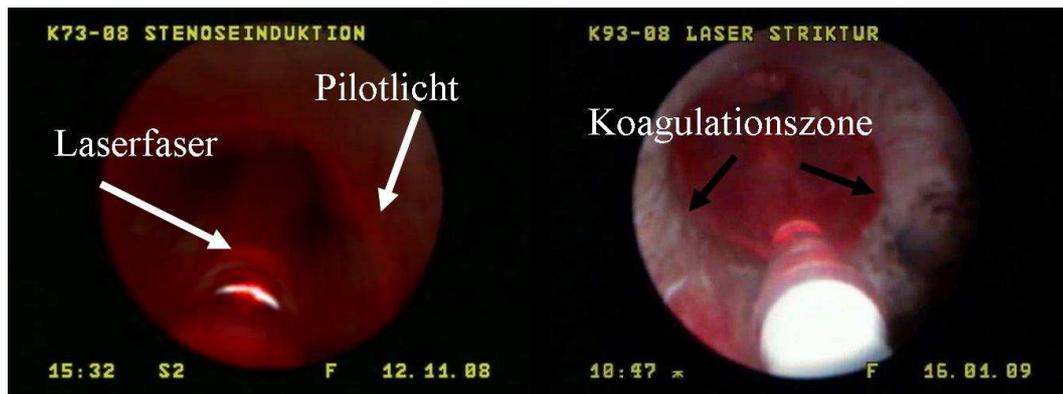


Abbildung 15. linke Abb.: Vor dem Lasern - Positionierung der Laserfaser, rechte Abb.: Nach dem Lasern - zirkuläre Koagulationszone

Mit einem Diodenlaser der Wellenlänge 1470 nm (Ceralas D 15, 1470 nm \pm 30 nm, 15 W, CeramOptec GmbH, biolitec AG) wird ein thermischer Schaden (rechte Abbildung 15) in der Harnröhre gesetzt. Eine Laserstrahlung der Wellenlänge 1470 nm mit einer Leistung von 10 Watt und im Mittel 10,2 sec (9,5-10,8) wird an der gewünschten Stelle appliziert. Die optische Eindringtiefe ins Gewebe liegt bei ca. 1,5 mm. Während der Strikturinduktion wird im Mittel eine Gesamtenergie von 106,7 Joule (98-112 J) abgegeben.

7. Versuchsdurchführung

7.1. Anästhesie und Operationsvorbereitung

Die Kaninchen werden vor der Narkose keiner Nahrungskarenz unterzogen. Nach der Identifizierung der Tiere mit Hilfe der Ohrtätowierung erfolgt die Gewichtskontrolle. Im Folgenden werden die Kaninchen klinisch untersucht und bei unauffälligem Allgemeinbefinden in den Operationsbereich gebracht.

Dort wird auf beide Außenseiten der Ohren des Kaninchens eine lokalanästhetisch wirksame Creme aufgetragen (Emla® Creme, Wirkstoff Lidocain und Prilocain, AstraZeneca GmbH Deutschland, Wedel). Nach kurzer Wartezeit und Anstauen der Gefäße werden zusammen mit einer Hilfsperson die venösen Zugänge gelegt. In beide *Vv. auriculares laterales* werden anschließend Venenverweilkatheter (Vasofix® Braunüle®, Venenverweilkanüle, 22 G, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) gelegt und mit 2 Klebestreifen (Leukoplast®, 2,5 cm x 5 m, BSN medical GmbH&Co.KG) fixiert. Bei der Narkoseform handelt es sich um eine total intravenöse Anästhesie (TIVA). Zur Narkoseeinleitung wird das

Hypnotikum Propofol (Propofol „Fresenius“ 1% mit MCT, Wirkstoff Propofol, 10mg/ml, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg) ohne Prämedikation nach Wirkung streng intravenös appliziert. Im Durchschnitt werden 2 ml des 1% Propofol benötigt, um die erwünschte Wirkung zu erzielen. Nach dem raschen Wirkeintritt wird der Kaninchenbock in Brustlage gelegt. Eine Augensalbe wird in beide Augen eingebracht, um ein Austrocknen der Kornea während der Narkose zu verhindern (Bephanten®, Augen- und Nasensalbe, Wirkstoff Dexpanthenol, Firma Bayer Health Care).

Dann erfolgt die Intubation mit einem Tubus (Tubusinnendurchmesser 2,5/3,0 mm mit Cuff, Fa. Rüsch, Wablingen). Dafür wird eine ca. 25 cm lange Mullbinde (Geka® Mullbinden, Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG, Neuwied) in die oberen beiden Schneidezähne des Kaninchens eingehängt. Eine Hilfsperson ist nötig, um den Kopf des Tieres nach vorne zu überstrecken. Vor der Intubation wird der Tubus mit einem lokal wirksamen Oberflächenanästhetikum (Xylocain® Gel 2%, Wirkstoff Lidocain, AstraZeneca GmbH) versehen. Die Zunge des Tieres wird mit der einen Hand zur Seite gehalten, so dass der Tubus an der Zunge vorbei in den Rachenbereich geschoben werden kann.

Ohne Sichtkontrolle wird der Tubus vor dem Kehlkopf platziert. Bei korrekter Lage ist die Atmung des Tieres gleichmäßig durch den Tubus zu hören. Ist der Schluckreflex noch vorhanden, wird je nach Situation ein weiterer Bolus an 1% Propofol intravenös gegeben, bis der Kehlbereich ohne Widerstand zu überwinden ist. Der Tubus wird vorsichtig mit leichten Drehbewegungen in die Trachea des Kaninchens vorgeschoben. Die richtige Lage wird entweder mit Hilfe eines angeschlossenen Kapnographenschlauchs an den Konnektor des Tubus oder durch die Atemgeräusche des Tieres durch den Tubus überprüft.

Mit Hilfe von Klebepflastern (Leukoplast®, 2,5 cm x 5 m, BSN medical GmbH&Co.KG) wird der Tubus an der Nase des Kaninchens fixiert. Somit kann ein Dislozieren bei Manipulation verhindert werden. Der Tubus wird dabei nicht geblockt. Die Mullbinde, die zur Intubation dient, wird zum einen unterhalb des Konnektors und zum anderen um den Tubus gebunden und daraufhin die zwei Enden der Mullbinde um den Hals des Tieres hinter den Ohren verknotet. Anschließend wird das Tier in Rückenlage gebracht und die Narkose vertieft. An den Venenverweilkatheter des linken Ohres wird über eine Perfusorverlängerung (Original-Perfusor®-Leitung, B. Braun Melsungen AG, Melsungen) die Infusions

Spritzpumpe (Original-Perfusor®-Spritzen 50 ml, B. Braun AG, Melsungen) angeschlossen, welche das Narkosemittel abgibt. Die Narkose wird mit 2% Propofol als DTI mit 25-30 ml/Tier/h (0,84-1 mg/Tier/min) (Propofol „Fresenius“ 2% mit MCT, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg) aufrecht erhalten. Eine Infusions-Spritzpumpe (Perfusor®, ED, 1-300, B. Braun AG, Melsungen) gibt kontinuierlich das Hypnotikum ab. Die Kaninchen werden nach Aussetzen der Spontanatmung, die durch die Gabe von 0,01 mg/kg KG des mittellang wirksamen Muskelrelaxans Atracurium (Atracurium-hameln, 10 mg/ml, Injektionslösung, Hameln Pharma PI GmbH, Hameln) und der atemdepressiven Wirkung des Fentanyl (Fentanyl®-Janssen 0,5 mg, Wirkstoff Fentanylcitrat, 50 µg/ml, Janssen Cilag GmbH) eintritt, mechanisch ventiliert. Zur Einleitung werden 5 µg/kg KGW des Fentanyl pro Tier verabreicht. Innerhalb der gesamten Narkose werden circa 50 µg/Tier Fentanyl pro Tier intravenös gegeben. Eine kontrollierte Beatmung ist durch ein Beatmungsgerät (Anesthesia Work Station, AWS, Hallowell, EMC-Pittsfield, MA, USA) während der Narkose gewährleistet. Die Beatmung erfolgt unter 100% Sauerstoff mit einem Druck von 7-10 mm Wassersäule und einer Beatmungsfrequenz von 25-30/min. Das Atemzugsvolumen bewegt sich bei 7-12 ml/kg Körpergewicht.

Die Kohlenstoffdioxidkonzentration wird über den Kapnograph (Capnomac Ultima, Datex, Achim) gemessen. Diese sollte beim Kaninchen zwischen 35 und 40 mmHg liegen. Dieser Wert wird mit einem Patientenmonitor (Datec Ohmed, S/5, F-CM1.00., Divison Instrumentarium Corp, Helsinki, Finnland) überwacht. Zur Kontrolle der Sauerstoffsättigung und der Pulsfrequenz wird ein Pulsoximeter (Fa. Ohmeda, Hattenhofen) im Zwischenzehbereich des Vorder- oder Hinterbeins oder am Perineum des Kaninchens während der Narkose befestigt.

Zwischen dem Venenzugang und dem Infusionsbesteck (Intrafix® SafeSet, Schlauchlänge 180 cm, B. Braun AG, Melsungen) wird am rechten Ohr ein Dreiwegehahn (Discofix®, B. Braun AG, Melsungen) angeschlossen. Somit können alle benötigten Medikamente neben der intraoperativen Infusionstherapie (Ringerlösung Delta, Delta Select, Pfullingen) verabreicht werden. Jedes Tier erhält intraoperativ 0,5 ml/Tier einer Antibiose intravenös (Borgal Lösung 24%, 40 mg/ml Trimethoprim, 200 mg/ml Sulfadoxin, Intervet, Unterschleißheim).

Neben den technischen Apparaturen werden auch die Reflexe des Kaninchens zur

Narkoseüberwachung verwendet. Nach Eintreten des Kaninchens in das chirurgische Toleranzstadium kann der operative Eingriff beginnen. Insgesamt werden die Tiere an allen vier Tagen des Versuchs in die beschriebene Allgemeinnarkose versetzt und die Versuche gemäß dem Studiendesign durchgeführt.

Das nicht depolarisierende Muskelrelaxans Atracurium ermöglicht eine Erschlaffung der Muskulatur der proximalen Harnröhre und des Blasenhales. Eine gleichmäßige Relaxation ist für die Beurteilung der Weite der Harnröhre von großer Bedeutung. In der Urologie werden die Patienten in der sogenannten „Steinschnittlage“ für diesen Eingriff gelagert (Heck and Fresenius, 2007). Dieser Lage angepasst liegen die Kaninchen in Rückenlage am Ende des Operationstisches auf einer OP-Matte (Abbildung 16).

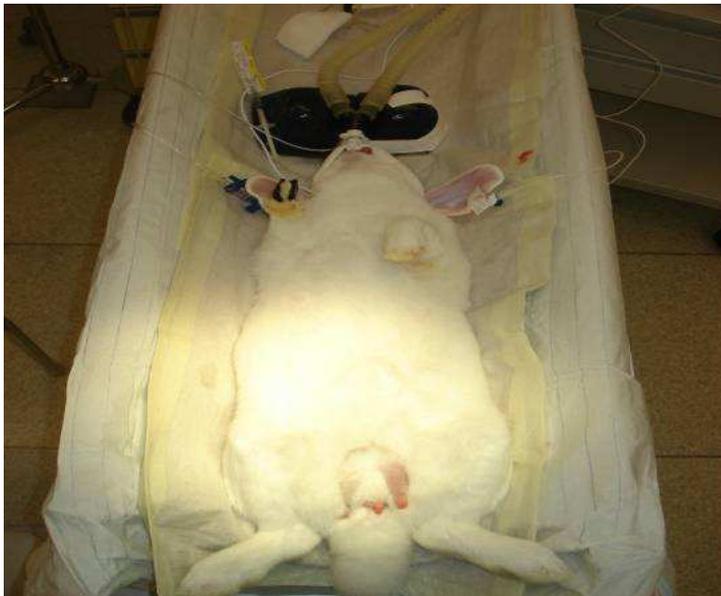


Abbildung 16: Lagerung des Versuchstieres

Bei der Lagerung ist es wichtig, dass das Tier nicht zu weit gegen das Ende der OP-Matte gezogen wird, um die Wirbelsäule des Tieres nicht unnötig zu verletzen. Vor dem operativen Eingriff wird die Region um den Penis großflächig mit einem Oberflächendesinfektionsmittel (Braunol®, Povidon-Jod, 500 ml, B. Braun AG, Melsungen) behandelt und steril mit einem Lochtuch abgedeckt (Raucodrape® Abdecktücher, OP-Lochtuch, 50x60cm, Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG).

7.1.1. Postoperative Versorgung

Nach dem Ausleiten der Narkose, nachdem der Schluckreflex der Tiere wieder eintritt und sie regelmäßig mit konstanter Sauerstoffsättigung atmen können, werden sie extubiert. Die Kaninchen werden anschließend in ihre Einzelboxen verbracht und bis zur Wiedererlangung ihres vollen Bewusstseins beobachtet. Postoperativ möchte man die durch den Eingriff verursachte Schmerzauswirkung so gering wie möglich zu halten.

Die postoperative Analgesie besteht aus einmal täglich Carprofen subkutan (Rimadyl®, 4 mg/kg KG, Pfizer Pharma GmbH, Berlin), zweimal täglich Buprenorphin subkutan (Temgesic®, 0,025 mg/kg KG, Essex Pharma) und Metamizol alle 4 Stunden 4 Tropfen per os (Novaminsulfon, Tropfen, 500 mg/ml, Ratiopharm GmbH, Ulm). Die postoperative Analgesie wird je nach Allgemeinzustand der Tiere über 2 bis 3 Tage fortgesetzt.

In der Woche der Dauerkathetereinlage (Tag 28-35) werden alle Versuchstiere antibiotisch 1x täglich mit Enrofloxacin (Baytril®, 10 mg/kg KG, subkutan, Pfizer Pharma GmbH, Berlin) abgedeckt. Die Ohrrendvenen der Tiere werden aufgrund der langen Versuchsdauer mit einer heparinhaltigen Salbe gepflegt (Heparin-ratiopharm®, 60000 Salbe, Heparin-Natrium 60.000 I.E, ratiopharm GmbH, Ulm).

7.2. Operatives Vorgehen

7.2.1. Tag 0 - Strikturinduktion

Nach abgeschlossener Operationsvorbereitung beginnt das operative Verfahren. Ein mobiles Röntgengerät, ein C-Bogen (OEC, Series 9800 Plus Cardiac, GE Healthcare) wird am Ende des Operationstisches platziert. Bei allen Röntgenaufnahmen wird für die späteren Ausmessungen eine Kalibriermarke im Bildbereich platziert.

Die erste Röntgenaufnahme ist eine Positionsaufnahme des Tieres. Anschließend beginnt der Operateur mit den Vorbereitungen für die dynamische Kontrastmitteldarstellung (CUG) der Harnröhre und Harnblase. Dabei wird auf einen Frauenkatheter (Frauenkatheter Charr. 12, Länge 18 cm, 2 seitliche Augen, Assa med GmbH, Bexbach) eine Blasenspritze (Omnifix® Solo, Wund- und Blasenspritze, 50 ml, B. Braun AG, Melsungen) gesetzt. Diese enthält eine

Mischung aus jodhaltigen Kontrastmittel (Imeron® 300, Wirkstoff Iomeprol, Nycomed GmbH, Konstanz) und 0,9% isotonischer Natriumchlorid-Lösung (Isotonische Natriumchlorid-Lösung Diaco, 100 ml, Serag Wiessner KG) zu gleichen Teilen. Der Katheter wird an der Spitze mit Gleitgel (Instillagel®, Gleitgel, Farco-Pharma, Köln) versehen, um das Einführen in die Harnröhre zu erleichtern. Die kontrastmittelhaltige Mischung wird unter gleichbleibendem Druck vom Operateur in die Harnröhre retrograd appliziert. Währenddessen wird die dynamische Kontrastmitteldarstellung mittels Durchleuchtung festgehalten (linke Abbildung 17). Das Versuchstier wird anschließend auf die rechte Seite gelagert (rechte Abbildung 17) und die Kontrastmitteldarstellung wiederholt.

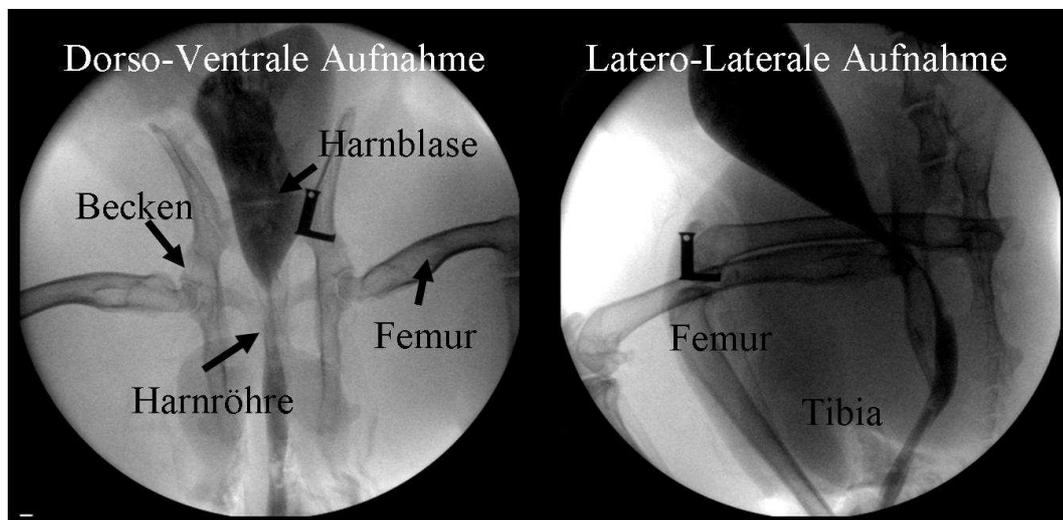


Abbildung 17. Röntgenaufnahme mit Kontrastmittel präoperativ (linke Abb.: ventro-dorsal; rechte Abb.: latero-lateral); im Bild „L“ als Kalibriermarke

Als nächstes wird das Endoskop für den Eingriff vorbereitet. Hierzu wird ein starres Charr.-14-Zystoskop (27033AA Miniatur Geradeausblick-Optik, 0°, 20 cm, mit eingebauter Fiberglas-Lichtleitung, Karl Storz GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland; 27033U Urethrotom-Schaft mit Luer-Lock Hahn, 8 Charr. mit Obturator, Karl Storz GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland) verwendet. Die auf Körpertemperatur vorgewärmte Spüllösung (Isotonische Natriumchlorid-Lösung Diaco, 100ml, Serag Wiessner KG) wird angeschlossen und das Endoskop eingeführt. Die Endoskopie wird auf ein Dokumentationsterminal (TELE PACK, Telecam mit Kamerakopf, endoskopische Videoeinheit, 20043001-020, K. Storz GmbH & Co. KG, Tuttlingen) übertragen. Die Endoskopien werden per Video mitgeschnitten. Die Harnröhre und die

Harnblase werden zuerst nativ endoskopiert. Dabei hält der Druck der Spüllösung das Lumen der Urethra offen. An die endoskopische Untersuchung schließt sich der chirurgische Eingriff an. Der Operateur führt die zirkuläre, flexible Laserfaser durch den Arbeitskanal des Endoskops. Das Ende der Faser steht etwa 2 cm aus dem Endoskoprohr heraus und ist somit gut sichtbar und zu navigieren. Das Pilotlicht zeigt die Position des Laserbereichs an, so dass der Schaden exakt positioniert werden kann. Die gewünscht Schadensposition liegt 1 bis 2 cm distal des *Colliculus seminalis* (Abbildung 18).

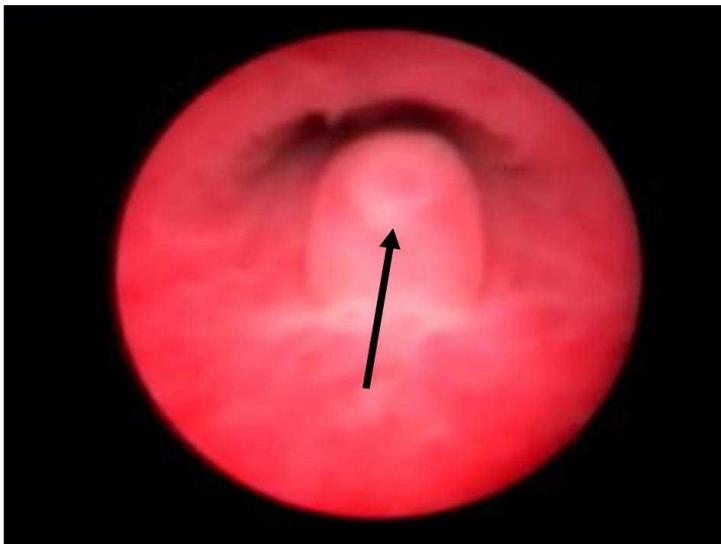


Abbildung 18. *Colliculus seminalis* eines Kaninchenbocks (Endoskopischer Blick)

Die Laserfaser wird auf dieser Höhe zentral in die Mitte des Lumens gelegt (Abbildung 19, Bild 1). Wenn diese Position eingenommen ist, kann der Spülstrom gestoppt werden. Daraufhin fällt die Schleimhaut in sich zusammen und liegt der Laserfaser an (Abbildung 19, Bild 2).

Nachdem das Personal mit Laserschutzbrillen ausgestattet ist, kann mit dem Lasern gestartet werden. Der Laser wird vom „Standby-Modus“ in den „aktiven Modus“ übergeführt. Der Operateur wird während des gesamten Laservorgangs das Endoskop in dieser Position halten. Nach der Applikation der Laserlichtenergie wird das Endoskop aus der Harnröhre entfernt, nachdem man den Laser wieder in den „Standby-Modus“ gestellt hat. Die Laserfaser wird aus dem Arbeitskanal entnommen und das Endoskop zur optischen Kontrolle des Schadens wieder in die Harnröhre eingeführt. Es werden die Lokalisation (Abbildung 19, Bild 4), die Schwere und die Zirkularität des induzierten

Laserschadens beurteilt (Abbildung 19, Bild 3) und zudem Blutungen oder iatrogene Verletzungen beachtet, protokolliert und dokumentiert.

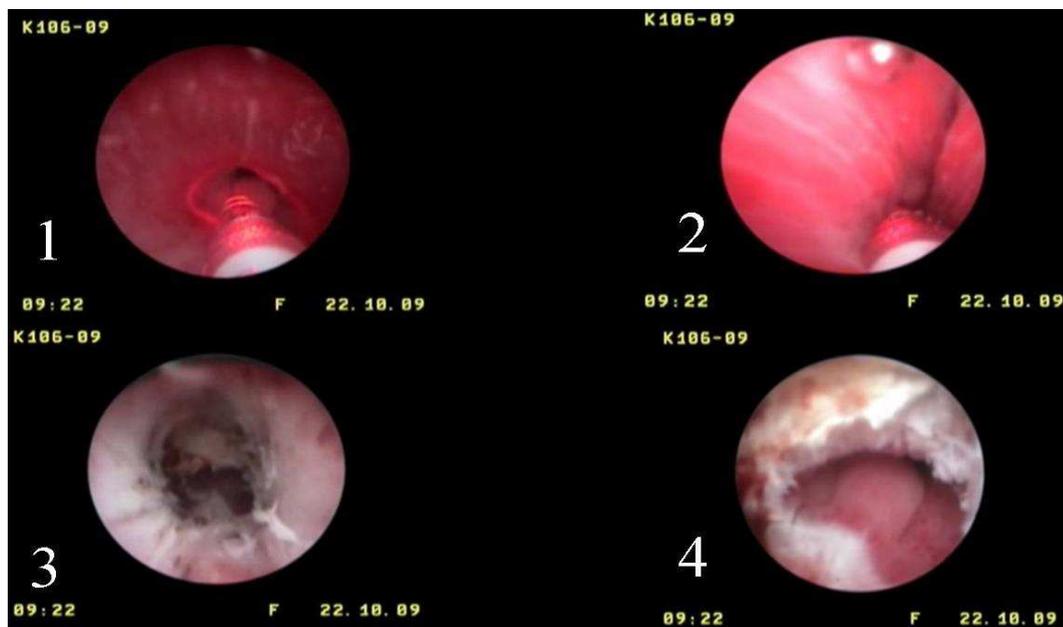


Abbildung 19. Strikturinduktion am Tag 0 (1: Positionierung der Laserfaser, 2: Spülstrom aus, Gewebe legt sich an Laserfaser an, 3: zirkuläre Koagulationszone, 4: Position des Laserschadens)

Nach der Strikturinduktion werden Kontrastmittel-Darstellungen der Urethra, auch Zystourethrogramm (CUG) genannt, zur Sichtung der genauen Positionierung des Schadens in zwei Ebenen (d/v, l/l) durchgeführt.

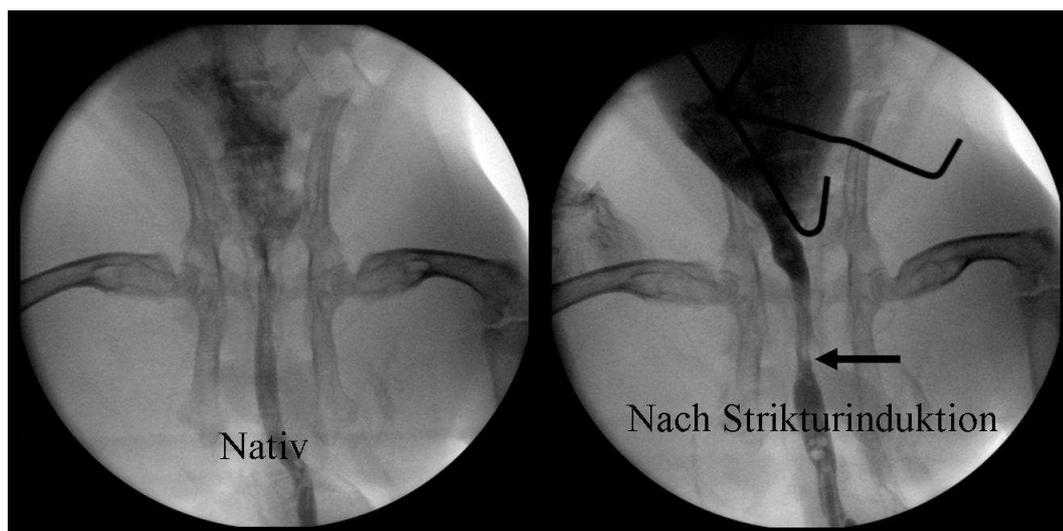


Abbildung 20: CUG v/d (linke Abb.: nativ, rechte Abb.: Position des Laserschadens)

Die Entwicklung der Strikturinduktion wird 28 Tage später beurteilt. Im

Anschluss erfolgt eine optische Kontrolle des Schadens mit dem Endoskop.

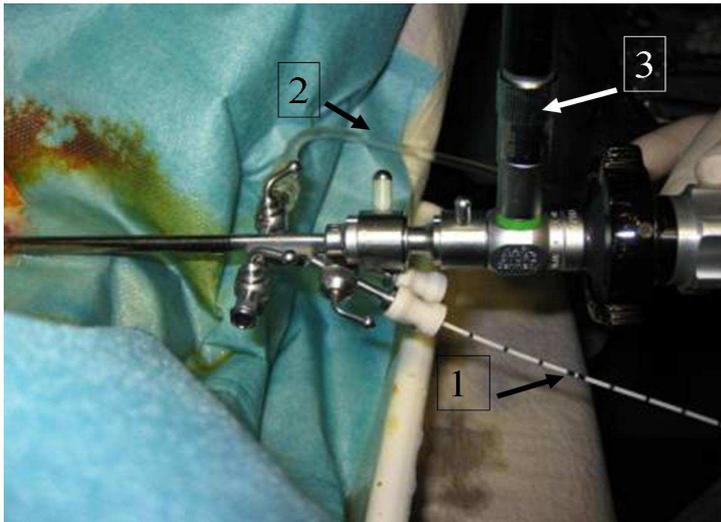


Abbildung 21. Aufbau des Endoskops (1: Laserfaser, 2: Spülung, 3: Kamera)

7.2.2. Tag 28 - Urethrotomia interna nach Sachse und Kathetereinlage

28 Tage nach der Strikturinduktion werden die Tiere erneut in eine Allgemeinnarkose versetzt. Die nativen Röntgenaufnahmen werden nach dem gleichen Schema wie am Tag 0 durchgeführt. Durch die dynamische Kontrastmittel- Darstellung lässt sich ein erster Eindruck der Striktur gewinnen.



Abbildung 22. Tag 28: Kontrastmitteldarstellung der Striktur in zwei Ebenen (linke Abb.: d/v, rechte Abb.: l/l, Pfeile auf Strikturstelle)

Anschließend wird die Urethra endoskopiert (Instrumente siehe Tag 0) und der Strikturgrad visuell beurteilt. Während der endoskopischen Inspektion, der Beurteilung und der Dokumentation wird an der Striktur nicht manipuliert.

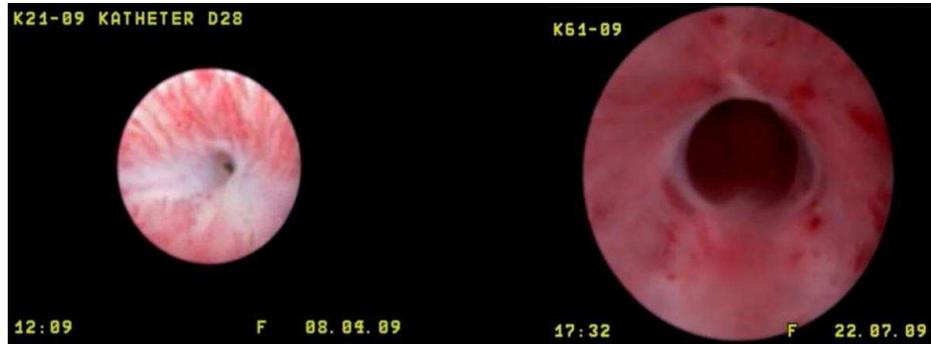


Abbildung 23. Tag 28 Endoskopischer Blick auf die Striktur (linke Abb.: hochgradige Striktur, rechte Abb.: mittelgradige Striktur)

Unter klinischen Gesichtspunkten wird nun der Befund einer Harnröhrenstriktur definiert. Als therapeutische Maßnahmen wird nun eine Urethrotomia interna durchgeführt (Abbildung 24). Dabei führt der Operateur in den Arbeitskanal des Endoskops ein Messer nach Sachse ein.

Auf 12 Uhr (Abbildung 24, Bild 2) wird das Narbengewebe der Harnröhre erweitert. Die Narbe wird soweit eröffnet, bis eine maximale Weite des Lumens erreicht ist (Abbildung 24, Bild 4).

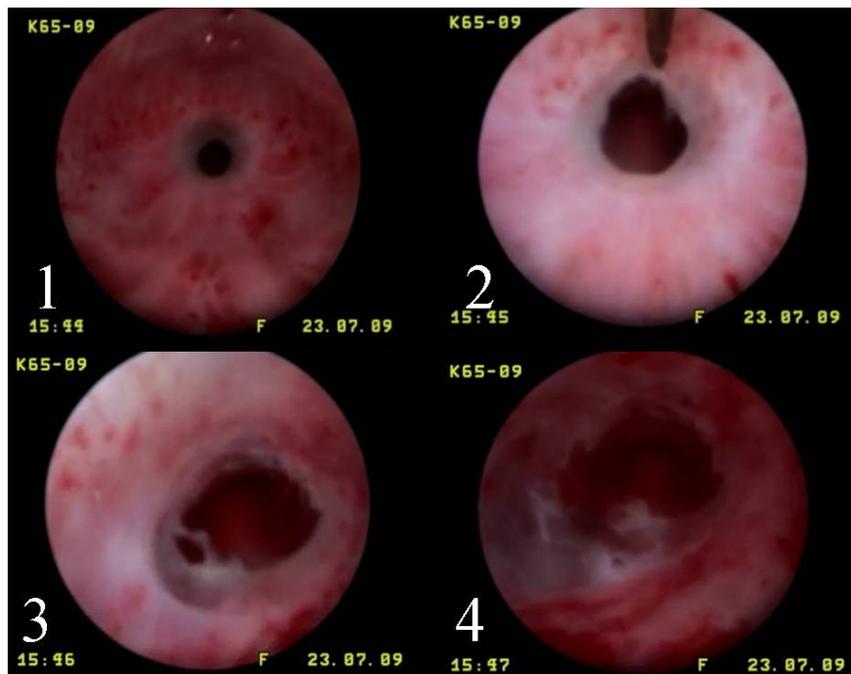


Abbildung 24. Abfolge der Urethrotomia interna am Tag 28 (Bild 1: ausgebildete Stenose am Tag 28, Bild 2/3: Schlitzzung nach Sachse, Bild 4: Narbenspange postoperativ eröffnet)

Nach dem Schlitzten der Striktur werden erneut Kontrastmittel-Aufnahmen (CUG) in beiden Ebenen (v/d, l/l) gemacht.

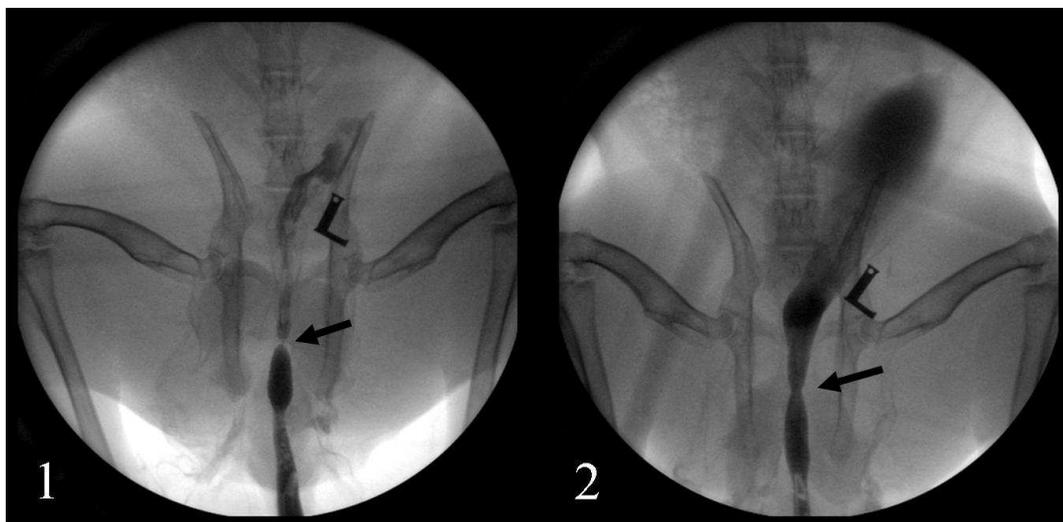


Abbildung 25. CUG am Tag 28 prae und post OP (Bild 1: v/d, Striktur prae OP, Bild 2: v/d, Striktur post OP, Pfeile: Strikturbereich)

Nach abgeschlossener Urethrotomia interna wird die Kathetereinlage vorbereitet. Die Einlage der Katheter erfolgt verblindet. Es werden radioaktive und nicht radioaktive Katheter (siehe Studienprotokoll) eingelegt. Aus einer sterilen Lösung

(Ringerlösung Delta, Delta Select, Pfullingen) wird der Katheter mit dem übergezogenen Plexiglaszylinder dem Operateur überreicht. Dieser führt den Katheter so ein, dass in keinem Fall eine Strahlenbelastung für das Personal und ihn selbst entstehen kann (Abbildung 26, Bild 1). Nachdem der Katheter in die Harnröhre eingelegt ist, wird die genaue longitudinale Position mit Hilfe der Röntgenkontrolle festgelegt. Der 2-Wege-Katheter besitzt einen Kanal zur Harnableitung und einen Kanal zum Befüllen des Ballons. Dieser Katheter wird innerhalb einer Woche nicht gewechselt. Bei der Einlage ist es wichtig, dass der Ballon des Katheters sich in der Blase und nicht der Samenblasendrüse befindet. Hierbei hilft die Eingabe von Kontrastmittel in den dafür vorgesehenen Kanal des Katheters (Abbildung 26, Bild 2).

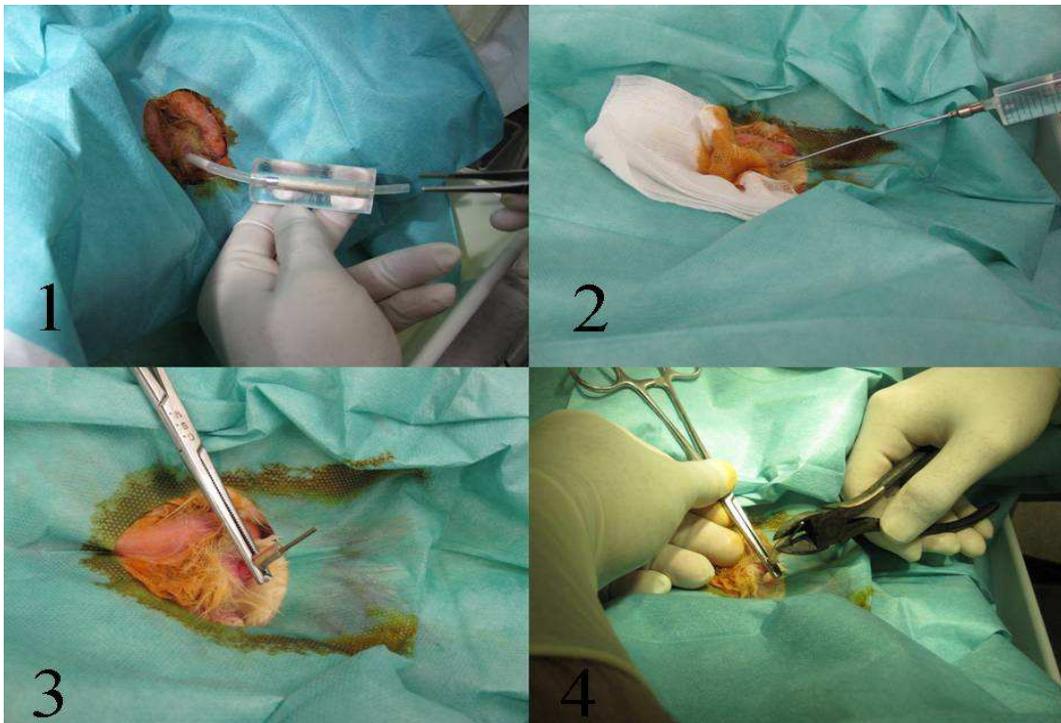


Abbildung 26. Kathetereinlage (2-Wege-Katheter) am Tag 28 (Bild 1: Einlage des Katheters unter Plexiglasschutz; Bild 2: KM-Applikation, um den Katheterballon zu füllen; Bild 3: Metallpin im Füllkanal, verhindert Auslaufen des KM; Bild 4: Kürzen des Metallpins)

Der Ballon wird mit 2 bis 5 ml Kontrastmittel gefüllt. Dann wird der Katheter in der gewünschten Position mit der Hand gehalten und der Kanal für die Eingabe des Kontrastmittels mit einer Kocherklemme verschlossen, so dass kein Kontrastmittel mehr austreten kann. Anschließend wird das distale Ende des Katheters gekürzt. Der Blockkanal wird mit einem Metallpin vorsichtig verschlossen (Abbildung 26, Bild 3). Dieser Pin wird mit einer Zange so

abgeschnitten (auf gleicher Höhe mit dem Katheter), dass keine Verletzungsgefahr für das Tier besteht (Abbildung 26, Bild 4). Während der Arbeitsschritte werden immer wieder Kontrollröntgenaufnahmen angefertigt. Wichtig bei der Positionierung des Katheters ist es, dass die Folie des Katheters über dem Strikturbereich zu liegen kommt. Die Röntgenmarkierung des Katheters (linke Abbildung 27) markiert den Anfang der radioaktiven Folie. Diese hat eine Länge von insgesamt 4 cm.

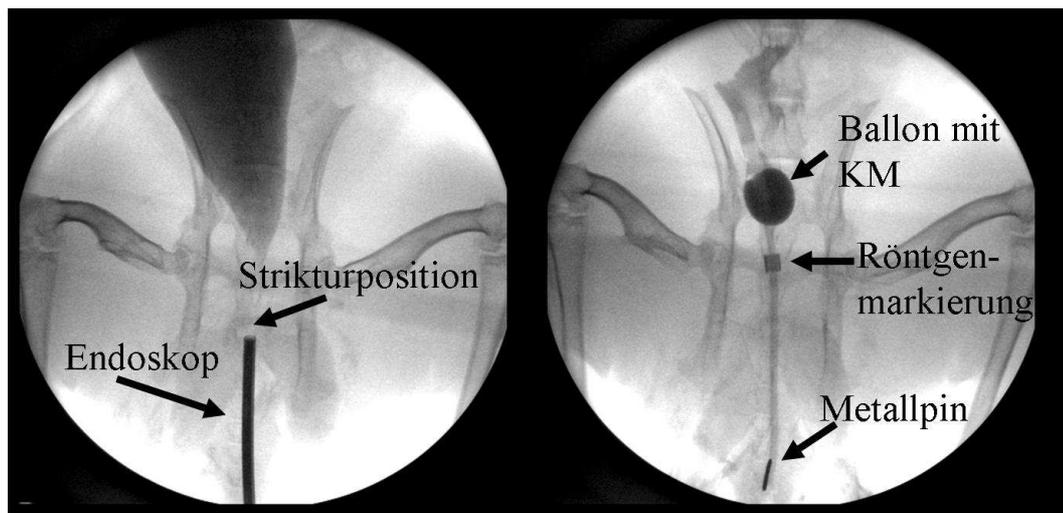


Abbildung 27. Kathetereinlage Tag 28 (rechte Abb.: Endoskop steht an Strikturposition; linke Abb.: Lage des Katheters, Ballon des Katheters mit KM, Röntgenmarkierung)

Abschließend wird der Katheter an der Innenseite des Präputiums, wie in Abbildung zu sehen ist, mit jeweils einem Hautheft fixiert (PROLENE®, USP 4-0, monofil, Ethicon, Johnson & Johnson MEDICAL GmbH). Diese werden innen mehrfach geknotet.

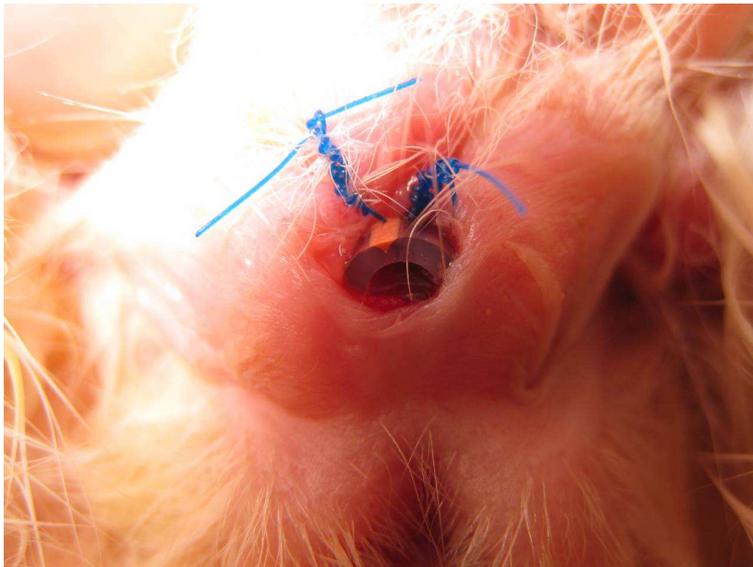


Abbildung 28. Fixierung des Katheters am Präputium am Tag 28

7.2.3. Tag 28 bis Tag 35 - Phase der Kathetereinlage

Das Kaninchen bekommt nun für 7 Tage einen Halskragen (Clic Collar, Buster, 7,5 cm, Kruse, Marslev, Denmark), um sich den Katheter nicht selbst zu entfernen. In der einwöchigen Phase der Dauerkathetereinlage müssen die Tiere engmaschig überwacht werden. Der Halskragen behindert die Tiere nicht an der Nahrungsaufnahme, dennoch werden die Kaninchen in dieser Versuchsphase mit einem Alleinfuttermittel für Heimtiere 3 x täglich (Critical Care, OxProline, Albrecht GmbH, Aulendorf) zugefüttert. Zweimal täglich wird das Allgemeinbefinden der Tiere und die Position des Harnkatheters kontrolliert (Hautfäden sichtbar, Katheter durch die Harnröhre zu tasten). Die Futteraufnahme, die Wasseraufnahme und der Kot- und Urinabsatz werden dokumentiert.

7.2.4. Tag 35 - Katheterentfernung

Am Tag 35 wird den Tieren der Halskragen entfernt, bevor die Kaninchen ein weiteres Mal in Narkose gelegt werden. Am Tag der Katheterentfernung werden, wie bereits an der ersten beiden Operationstagen, native Röntgenaufnahmen in zwei Ebenen angefertigt. Diesmal wird hiermit überprüft, ob der Katheter noch in der Ausgangsposition von Tag 28 liegt. Danach wird er entfernt. Damit der Katheter nach dem Entblocken des Ballons nicht in die Harnröhre disloziert, wird er mit einer Kocherklemme festgehalten. Die Haltefäden werden mit einem Fadenmesser (Peha Fadenmesser, Paul Hartmann AG, Heidenheim) gelöst.

Anschließend schneidet der Operateur mit einer Schere den Kanal für das Kontrastmittel auf, so dass der Ballon entblockt wird. Das Kontrastmittel läuft in eine Auffangplastikschale. Daraufhin kann der Blasenkatheter gezogen werden. Die Katheter werden wie bei der Einlage durch eine Plexiglasvorrichtung abgeschirmt und dann in einen größeren Plexiglasbehälter überführt. Im Anschluss wird eine Endoskopie durchgeführt und die ehemalige Strikturstelle und die Schleimhaut der Urethra visuell begutachtet.

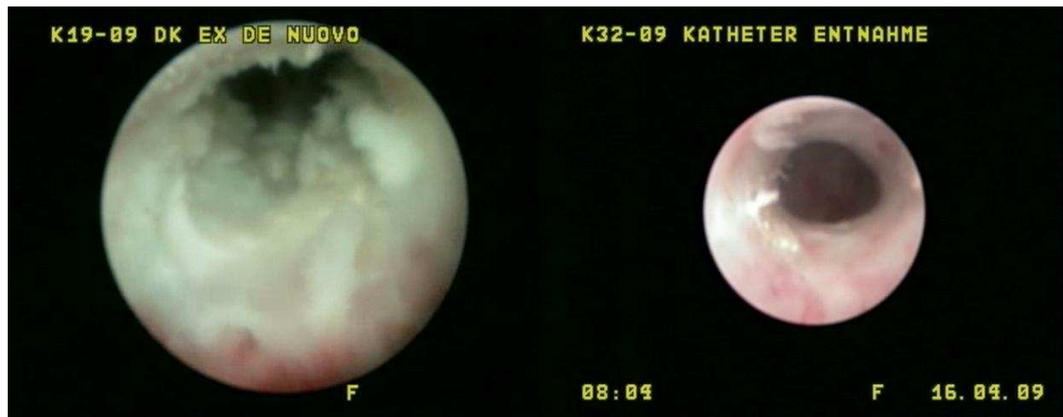


Abbildung 29: Gewebeauflagerung nach einwöchiger Kathetereinlage am Tag 35 (endoskopischer Blick)

7.2.5. Tag 63 - Euthanasie

Am letzten Versuchstag werden wie an den vorausgegangenen Versuchstagen (Tag 0, Tag 28, Tag 35) native KM-Darstellungen der Harnröhre in zwei Ebenen mit sich anschließender Zystourethroskopie unter Vollnarkose durchgeführt. Die Euthanasie des Tieres am Tag 63 erfolgt mit einer Überdosis Barbiturat. Hierzu werden den Tieren in der Vollnarkose 90mg/kg Pentobarbital (Narcoren®, Pentobarbital, Merial GmbH, Halbergmoss) intravenös verabreicht und der Venenverweilkatheter anschließend mit 5 ml Spüllösung (NaCl, 0,9% Spüllösung, Delta Select GmbH, Pfullingen, Deutschland) gespült. Noch innerhalb der Injektion stirbt das Tier schmerzlos.

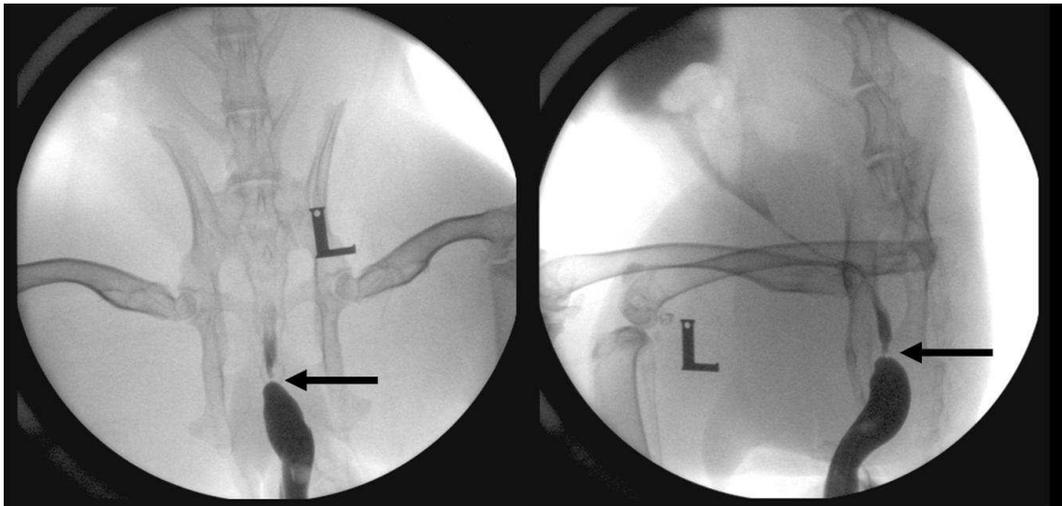


Abbildung 30: Kontrastmitteldarstellung der Harnröhre am Tag 63 in zwei Ebenen (linke Abb.: v/d; rechte Abb.: l/l; Pfeile: Strikturstelle)

7.2.6. Gewebeentnahme

Die Entnahme der Harnorgane für die histologische Untersuchung erfolgt direkt im Anschluss an die Euthanasie. Das Tier liegt in Rückenlage. Als erstes wird in die Harnröhre mit Hilfe eines Harnkatheters 4% Formalin eingegeben, um Autolyse-Artefakte zu verhindern. Die Penisspitze wird zusammen mit dem Katheter mit einer Klemme verschlossen, so dass das Formalin nicht mehr austreten kann. Dann wird mit einem Skalpell (Feather Disposable, Scalpel, Feather Safety Razor CO., CTD., No.22, Feather) ein circa 10 cm langer Schnitt über der Beckensymphyse zwischen die Hoden gesetzt. Beide Hoden werden abgesetzt und der Hautschnitt wird bis zur Penisspitze verlängert. Die gesamte Haut des Penis wird abpräpariert. Liegt der Penis frei, wird die muskuläre Verbindung zwischen Penis und Becken gelöst. Dies erfolgt mit einer feinen Präparierschere. Hierbei muss sehr präzise und vorsichtig vorgegangen werden, um die Harnröhre nicht zu verletzen. Anschließend wird die Bauchhöhle eröffnet und die Blase vorgelagert. Der Schnitt der Bauchhöhle wird bis zum knöchernen Teil des Beckens erweitert und es wird mit den Fingern die Harnblase und die sich anschließende Harnröhre soweit wie möglich stumpf abgetrennt. Ist die Harnröhre von beiden Seiten mobilisiert, gilt es das knöcherne Becken zu entfernen, um den Harntrakt in toto entnehmen zu können.

8. Herstellen und Aufbereiten der Präparate

Nach der Gewebeentnahme wird die Blase eröffnet und das Formalin-

Uringemisch in einen Behälter gegeben. Anschließend wird das Gewebe in einer Nierenschale mit steriler Ringer-Lösung (Ringerlösung Delta, Delta Select, Pfullingen) gespült. Die nach der Entnahme übrig gebliebenen Muskel- und Gewebereste werden entfernt und die Harnröhre auf eine Korkplatte gelegt. Um die genaue Position der Strikturstelle zu identifizieren, wird eine Endoskopie angeschlossen und die Stelle der Striktur mit Stecknadeln von außen gekennzeichnet (in Abbildung 31 gelbe Stecknadeln), so dass sie bei der anschließenden Weiterverarbeitung des Gewebes zu identifizieren ist. Zur Fixation wird die Korkplatte mit dem Präparat in ein Glas mit 4% Formalinlösung gegeben. Das Gewebe wird 5 Tage lang in 4% Formalin fixiert und dann zu einzelnen 1 cm langen „Gewebeblöcken“ zugeschnitten. Aus dem markierten Strikturbereich wird ein Zuschnitt gewonnen, so dass sich die Striktur in diesem Zuschnitt befindet. Vor und hinter dem Zuschnitt aus dem sicheren Strikturbereich wird jeweils ein weiterer 1 cm großer Gewebestück zugeschnitten.

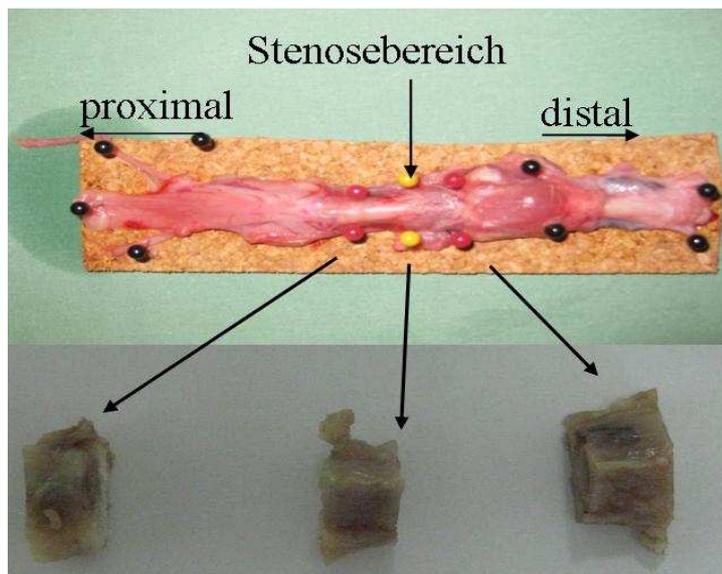


Abbildung 31: Zuschnitt des Gewebes für die histologische Untersuchung (gelbe Markierung hier: Strikturbereich; rote Markierung hier: proximales und distales Ende des Beckenbereichs der Urethra)

Der Zuschnitt erfolgt immer quer zur Harnröhre. Es werden mindestens 3, höchstens 5 „Gewebeblöcke“ gewonnen. Die Harnröhre bleibt bei als Röhrenform bestehen. Dieses Protokoll wird gewählt, um bei der histologischen Auswertung das Restlumen der Striktur ausmessen zu können. Die Blöcke werden in kleine Plastik-Kassetten gegeben. Um die Richtung der Blöcke nach dem Entwässern zu identifizieren, werden sie auf der einen Seite mit einem Einzelheft aus chirurgischem Nahtmaterials markiert. Die Proben werden vor dem Entwässern

im Automaten (Einbettautomat Hypercenter XP, Firma Shadon, jetzt Firma Fisha Scientific GmbH, 58239 Schwerte, Deutschland) 2 Stunden unter kaltes, fließendes Wasser gestellt. Anschließend werden die Gewebeschnitte entwässert. Nachdem das Gewebe entwässert ist, werden die Blöcke in Paraffin gegossen (Paraffinausgießstation, Leica-EG 1160, Leica Mikrosystems Nussloch GmbH, Nussloch). Aus den Paraffinblöcken werden Schnitte mit einer Dicke von 2-3 μm angefertigt (Leica 2035, Jung Biocutt, Mikrotom, Leica Mikroskop System GmbH, Nussloch). Aus jedem Block werden 30 Gewebeschnitte angefertigt, wobei immer nach 10 aufeinanderfolgenden Schnitten (20-30 μm) je ein Millimeter verworfen wird (Nummerierung: 1.1-1.10, 1 mm verworfen, 2.1-2.10., 1 mm verworfen, 3.1-3.10.). Insgesamt ergibt das bei 3 Blöcken ein Minimum an 90 hergestellten Gewebeschnitten pro Tier. Vor dem Färben werden die Schnitte bei 60 Grad hitzefixiert und dann im Färbeautomaten (Histolab Products, Combined Slide Stainer 4009, Firma Vogel, Göteborg, Schweden) gefärbt. Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung kann vollständig im Automaten durchgeführt werden. Die Elastika-van-Gieson-Färbung wird teilweise automatisch, teilweise von Hand angefärbt. Die α -SMA-Färbung der Präparate wird vom Pathologischen Institut der medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München (Campus Innenstadt) durchgeführt. Die ausführliche Beschreibung der Färbungen folgt im Anhang. Bei der Auswahl der Präparate wird darauf geachtet, dass es sich um Folgeschnitte (aufeinanderfolgende Schnitte) handelt. Bei qualitativ minderwertigen Gewebeschnitten wird nicht der Folgeschnitt, sondern ein Schnitt danach ausgewählt, um möglichst alle Präparate aus einem Bereich zu beurteilen.

8.1. Hämatoxylin-Eosin Färbung (HE-Färbung)

Als Zellübersichtsfärbung und zur Beurteilung der morphologischen Veränderungen dient eine HE-Färbung der jeweils 3. und 7. Schnitte der Blöcke.

8.2. Elastika-van-Gieson Färbung (EvG-Färbung)

Zur Darstellung der elastischen Fasern und kollagenen Fasern wird jeweils der 4. und 8. Schnitt der Blöcke mit der Elastika-van-Gieson Färbung gefärbt. Die Schnitte werden erst mit der HE-Färbung angefärbt und dann anschließend erfolgt die Färbung mit der Pikrinsäure-Säurefuchsin. Die Zellkerne stellt sich bei dieser Färbung schwarzbraun, das Zytoplasma hellbraun dar. Elastische Fasern werden schwarz, Muskelgewebe wird gelb und Kollagenfasern werden rot angefärbt.

8.3. Immunhistochemische Färbungen (α -SMA-Färbung)

Die α -SMA-Färbung (α - smooth muscle actin) Färbung dient zu Darstellung der Myofibroblasten. Zum Färbeprotokoll und den Materialien, welche bei der histologischen Aufbereitung verwendet werden, siehe Anhang.

9. Auswertung

Die gesamte Auswertung der Daten erfolgt verblindet. Erst nachdem alle Parameter und Ergebnisse untersucht sind, wird die Studie entblindet, das bedeutet, dass die Tiere den verschiedenen Dosis-Gruppen (0, 15, 30 Gy) zugeordnet werden. Im Ergebnisteil werden die verblindeten Auswertungen den Stenosegraden zugeordnet, die unverblindeten Auswertungen den Dosis-Gruppen (Gray).

9.1. Histomorphometrische Auswertung

Nach Durchsicht der gesamten Präparate werden pro Tier 3 repräsentative Gewebeschnitte (jeweils ein HE-Schnitt, ein EvG-Schnitt, ein α -SMA-Schnitt) ausgewählt. Die Schnitte werden mit einem Leica Mikroskop (Leica DM IRB/E, Gerätetyp TCSNT, Leica Mikrosystems, Wetzlar) mit Hilfe einer Schrittmotorsteuerung und eines neu entwickelten „Abrasterprogramms“ in einer 10 fachen Vergrößerung aufgenommen (Abbildung 32). Pro Präparat entstehen so bis zu 500 Einzeldateien. Diese Einzeldateien werden mit einem neu entwickelten Programm zu einem großen Gesamtbild zusammengesetzt (Stitchprogramm).

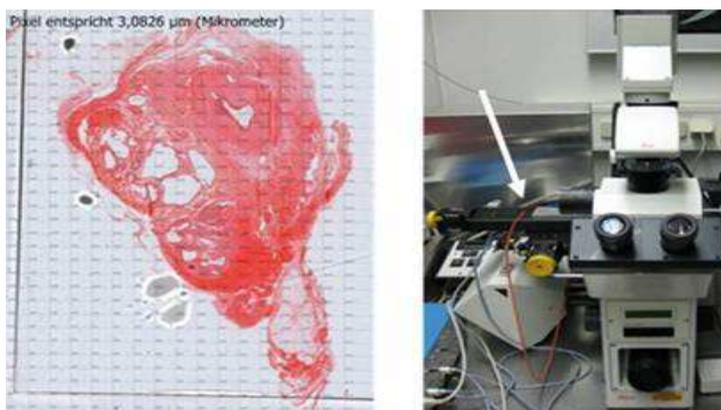


Abbildung 32: Technik für die Digitalisierung der histologischen Präparate (linke Abb.: Abgerasterte Aufnahme eines histologischen Präparats; rechte Abb.: Mikroskop mit Schrittmotorsteuerung)

Anschließend lässt sich das Gesamtbild oder Ausschnitte des Bildes auf eine

bestimmte Größe skalieren. Dies ermöglicht ein Ausmessen der Gewebeschnitte im μm Bereich. Der Maßstab wird in diesem Programm angegeben. Ein Pixel entspricht einer metrischen Größe in μm . Die digitalisierten Präparate werden in das „Freeware Programm“ Datinf® Measure (Datinf® Measure, DatInf GmbH, Tübingen) eingegeben.

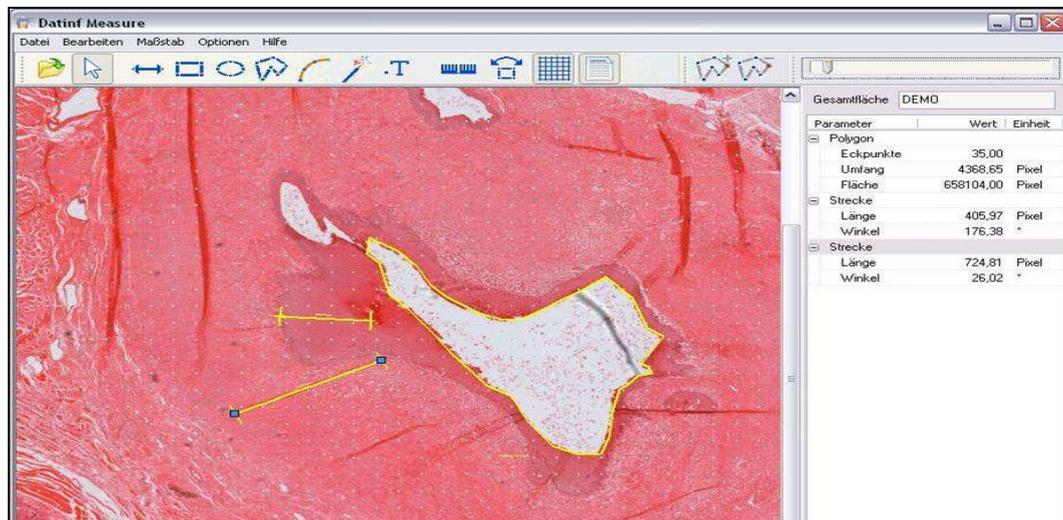


Abbildung 33: Benutzeroberfläche des DatInf® Measure (Berechnung von Strecken, Umfängen und Flächen der digitalisierten histologischen Präparate)

Die Software für die Schrittmotorsteuerung wurde in Zusammenarbeit mit dem Laser-Forschungslabor der Ludwig-Maximilians-Universität München entwickelt. Folgende Parameter werden bestimmt:

- Dicke des Urothels (Min und Max) in μm

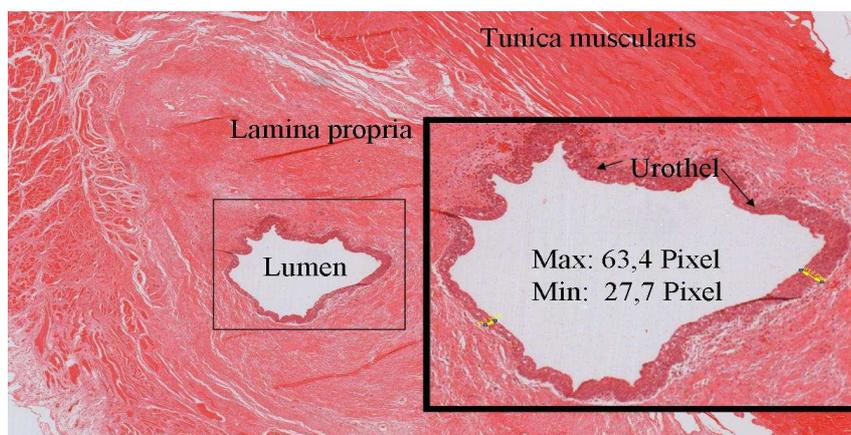


Abbildung 34: Ausmessen des Minimums und des Maximums der Epitheldicke im DatInf Measure®, in 10f-Vergrößerung aufgenommen

- Fläche/ Umfang der Lamina propria (Bindegewebe „gesamt“) in mm^2/mm

Die Fläche des Bindegewebes wird zuerst ohne Berücksichtigung der Lumengröße berechnet. Die Fläche des Bindegewebes „Allein“ wird errechnet aus der Fläche des Bindegewebes „Gesamt“ minus der Fläche des Urothels „Außen“.

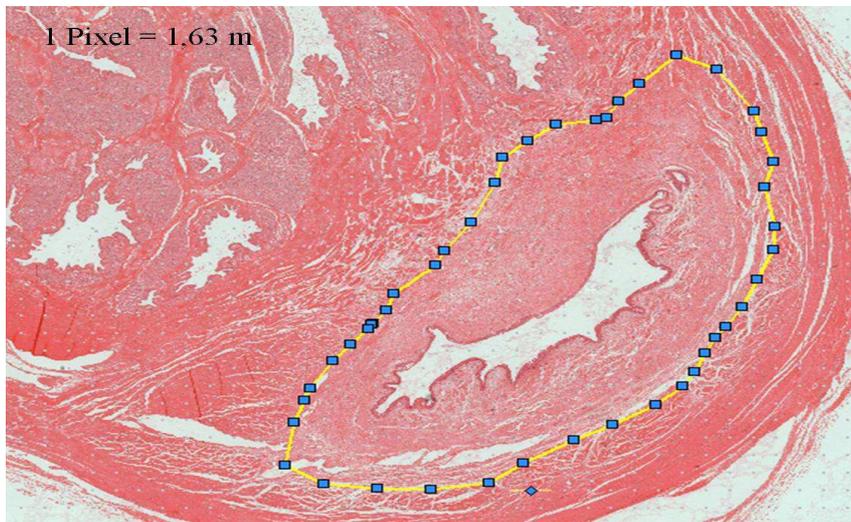


Abbildung 35: Ausmessen der Fläche und Umfang des Bindegewebes im *DatInf Measure*®, in 10f-Vergrößerung aufgenommen

- Minimum (Min) und Maximum (Max) der Bindegewebisdicke in mm



Abbildung 36: Ausmessen des Minimums und des Maximums des Bindegewebes im *DatInf Measure*®, in 10f-Vergrößerung aufgenommen

- Fläche/ Umfang des Urothels „Außen“ in $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$

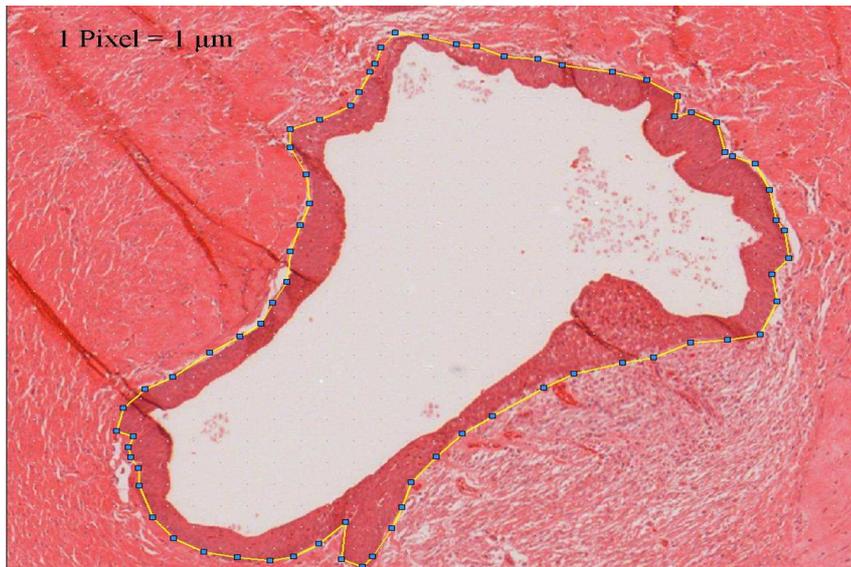


Abbildung 37: Ausmessen der Fläche und des Umfangs des Urothels „Außen“ im DatInf Measure®, in 10f-Vergrößerung aufgenommen

- Fläche/Umfang des Urothels „Innen“ (Lumen) in $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$

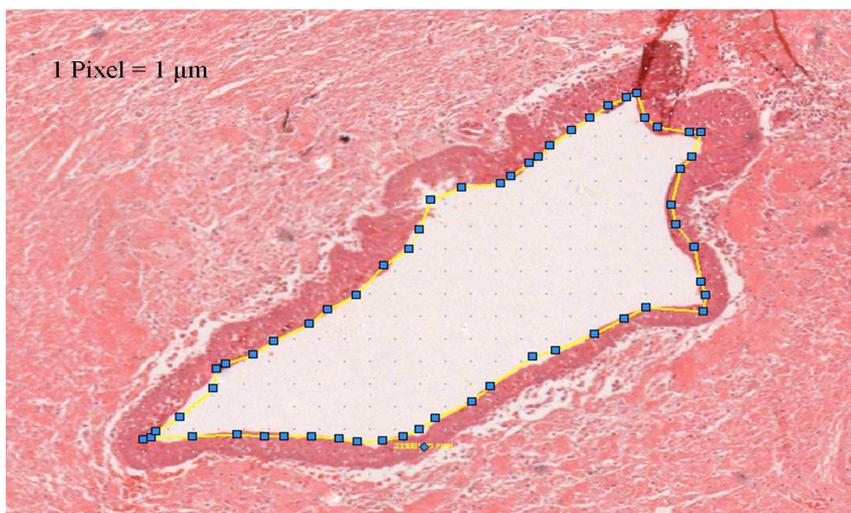


Abbildung 38: Ausmessen der Fläche und Umfang des Urothels „Innen“ im DatInf Measure®, in 10f-Vergrößerung aufgenommen

Das Urothel „Innen“ beschreibt die Ausmaße des Harnröhrenlumens.

9.2. Histopathologische Auswertung

Zur histopathologischen Auswertung werden alle Präparate (HE, EvG, α -SMA) auf die verschiedenen Kriterien untersucht.

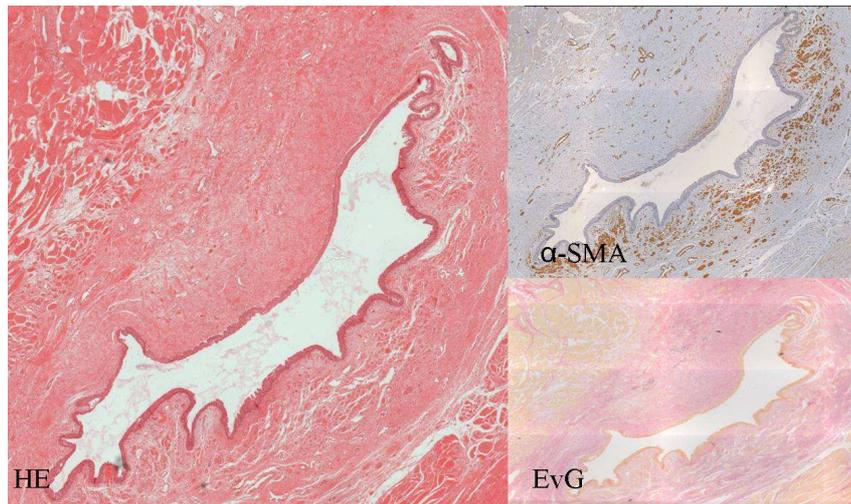


Abbildung 39. Anfärben der histologischen Präparate (HE, α -SMA, EvG), 10f-Vergrößerung

Um die Auswirkungen der Strahlenbehandlung auf die Gefäßarchitektur, die Entzündung und die Zellreaktion zu quantifizieren, werden ohne Kenntnis der jeweiligen Dosisgruppe (verblindet) unter Mithilfe von Frau PD Dr. med. D. Mayr (Pathologisches Institut der medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München) diese Parameter an allen Schnitten untersucht.

Der Fibrosegrad, der Gehalt an α -SMA des Gewebes und die detaillierte Beurteilung des Urothels werden semiquantitativ erhoben (*engl. score* = Auswertungsschema) (Tabelle 1).

Score (Fibrosegrad + α -SMA des Gewebes)	
0	Kein Befund
1	geringgradig
2	mittelgradig
3	hochgradig

Tabelle 1: Score für die histologische Beurteilung de Fibrosegrad und des Gehalts an α -SMA

Da es bei den entzündlichen Veränderungen möglich ist einzelne Entzündungszellen zu zählen, wird hier ein anderes Auswertungsschema entwickelt (Tabelle 2).

Score für Entzündung	
0	Keine Entzündung vorhanden
1	Vereinzelt, diffus verteilte
2	Entzündungsherde (ROI n > 20)
3	Mehr als ein Entzündungsherd oder 1+2

Tabelle 2: Score für die histologische Beurteilung der entzündlichen Veränderungen

Bei der Beurteilung des Strahlenschadens werden die Gefäße auf strahleninduzierte Veränderungen untersucht (0 = Nicht vorhanden, 1 = Vorhanden). Dabei wird auf eine strahlenbedingte Veränderung an den mittleren und kleinen Gefäßen geachtet. Hierfür werden pro Präparat 8-10 Gesichtsfelder in der 10f- bzw. 20f-Vergrößerung gewählt und beurteilt (ROI = engl. *region of interest*, Bereich von Interesse).

Es werden folgende Befunde erhoben:

- Entzündungsgrad im Epithel und im Bindegewebe (*Lamina propria*)

Wie bereits erwähnt werden bei hier 8-10 Gesichtsfelder untersucht und einzelne Entzündungszellen (Granulozyten, Lymphozyten, Plasmazellen, Makrophagen) gezählt.

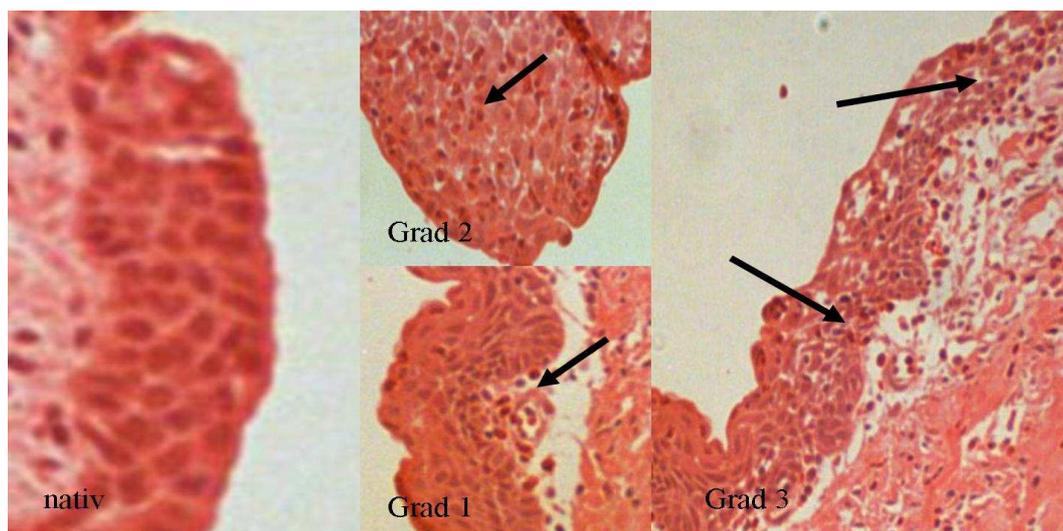


Abbildung 40: Entzündungsgrad des Urothels (1, 2, 3), 20f-Vergrößerung; (linke Abb.: natives Gewebe ohne entzündliche Veränderung, 40f-Vergrößerung; Pfeile auf Granulozyten)

- Fibrosegrad

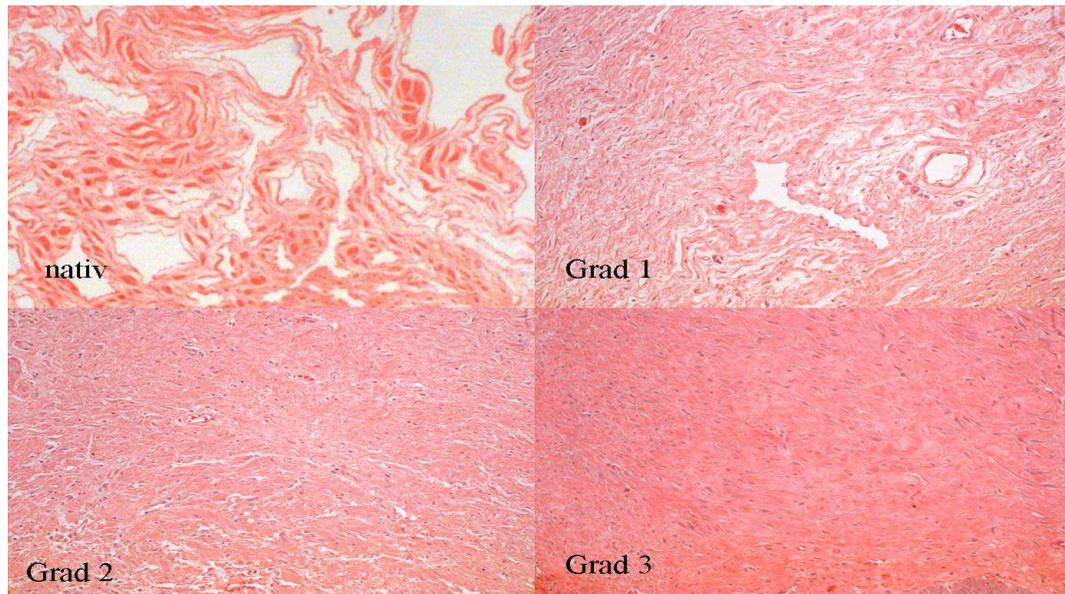


Abbildung 41: Fibrosegrad (1, 2, 3); Zunahme der kollagenen Fasern von Grad 1 (geringgradig) bis Grad 3 (hochgradig), aufgenommen in einer 20f-Vergrößerung

- α -SMA-Grad des Gewebes

Das α -SMA wird braun angefärbt. Vaskuläre SMA-Zellen und glatte Muskulatur werden ebenfalls mit angefärbt (nativ). Die Intensität der Färbung zeigt die Menge an Myofibroblasten.

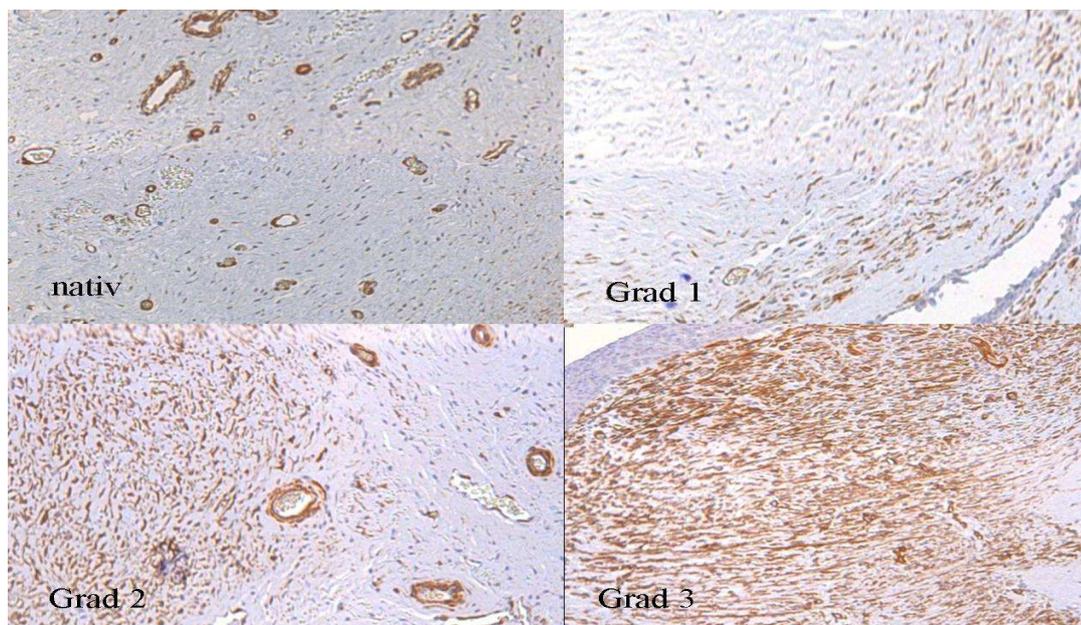


Abbildung 42: α -SMA-Grad (1-3), aufgenommen in einer 20f-Vergrößerung

- Strahlenschaden der Gefäße

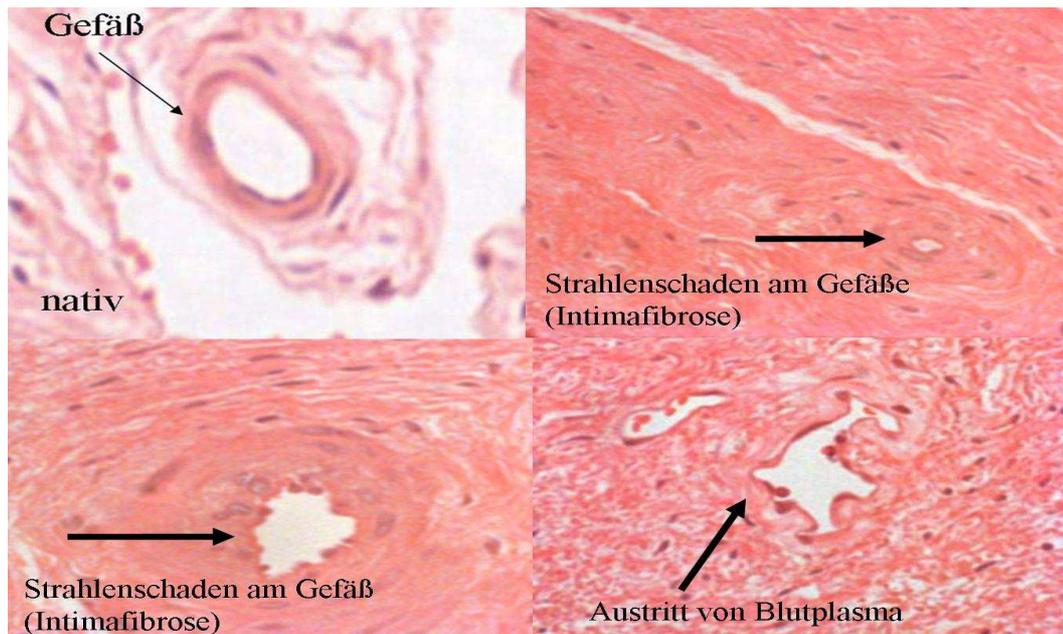


Abbildung 43: Strahlenschaden an den mittleren und kleinen Gefäßen, 20f-Vergrößerung

- Beschaffenheit des Urothels (Regeneration, Ödem, Erosion, Ulzeration, Hyperplasie, Metaplasie)

9.3. Auswertung der Röntgen- bzw. Endoskopiedaten

Die Endoskopieaufnahmen und die CUG-Untersuchungen werden neben den histologischen Messdaten zur Einteilung der Stenosegrade herangezogen. Des Weiteren wird die Lokalisation der Stenose durch die Positionierung des Endoskops an der Stenosestelle während der Röntgenaufnahme und das CUG festgehalten. Die Röntgenbilder werden mit einem speziellen Freeware Programm für Röntgenbetrachtungen bearbeitet (DicomWorks, Philippe PUECH and Loïc, BOUSSEL). Mit Hilfe der röntgenologischen Daten werden unter Berücksichtigung des Maßstabs (welcher durch die Kalibriermarke gegeben ist) die Höhe der Stenose und der Stenosegrad ausgemessen. Die Ausprägung der Stenose wird in 3 Grade unterteilt (mild = 1, mittel = 2, schwer = 3). Die Position der Stenose wird, wie in Abbildung 44 gezeigt, ausgemessen. Dafür wird zwischen die Mittelpunkte der beiden Oberschenkelköpfe (*Caput ossis femoris*) des Kaninchens (ventro-dorsale Ebene) eine Gerade eingezeichnet und diese verbunden.

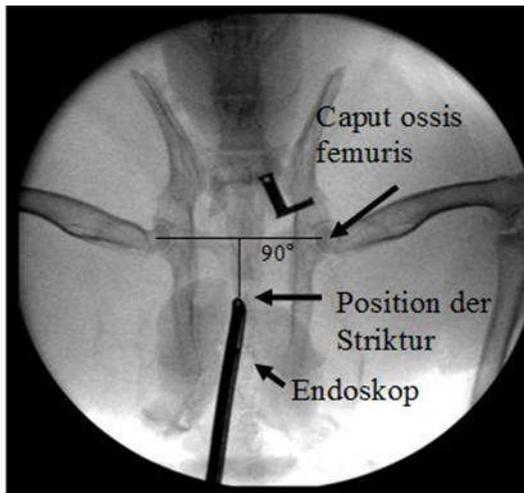


Abbildung 44: Lokalisation der Strikturposition

Dann wird eine weitere Gerade im 90° Winkel bis zum abgebildeten Endoskop gezogen. Neben dieser Methode, die Position der Stenose zu bestimmen, kann auch über das CUG die Lokalisation der Stenose berechnen werden. Allerdings besteht hier der Nachteil, dass diese nicht immer klar definiert ist (nur bei hochgradigen Strikturen). Bei längerstreckigen Strikturen (wie in Abbildung 45, rechte Abb.) wird ein Mittelwert bestimmt.

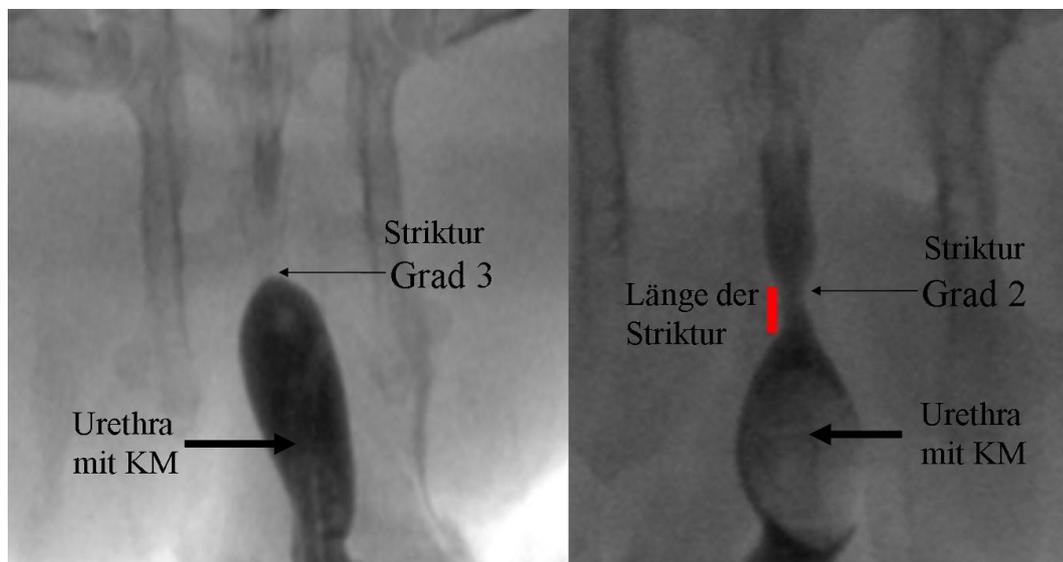


Abbildung 45: CUG der Urethra (v/d) (linke Abb.: Hochgradige Stenose; rechte Abb.: mittelgradige, längerstreckige Stenose, roter Balken gibt die Länge der Striktur an)

Die Einteilung der Stenosegrade erfolgt anhand der endoskopischen Aufnahmen und der Röntgenkontrastmitteldarstellung. Metrische Daten der histologischen Präparate werden ebenfalls zur Bestimmung des Stenosegrades herangezogen.

Die bildgebenden Verfahren werden folgendermaßen ausgewertet:

Stenose	Röntgen	Endoskopie
Grad 1	Restlumen: > 50%	passierbar
Grad 2	Restlumen: < 50%	Nicht passierbar
Grad 3	Restlumen: < 10%	Nicht passierbar

Tabelle 3: Einteilung der Stenosegrade (röntgenologisch, endoskopisch)

Ist die Stenose mit dem Endoskop zu passieren wird sie als Grad 1 bezeichnet. Ist die Stenose nicht mit dem Endoskop zu passieren, ohne sie dabei aufzudehnen, wird sie als Grad 2 bezeichnet. Bei einem subtotalen bis totalen Verschluss liegt Grad 3 vor (Abbildung 46).



Abbildung 46: Stenosegrad 1-3 (endoskopische Beurteilung)

Mit dem CUG kann der Stenosegrad ebenfalls bestimmt werden (Abbildung 47). An der Stenoseposition wird die Weite der Harnröhre bestimmt.

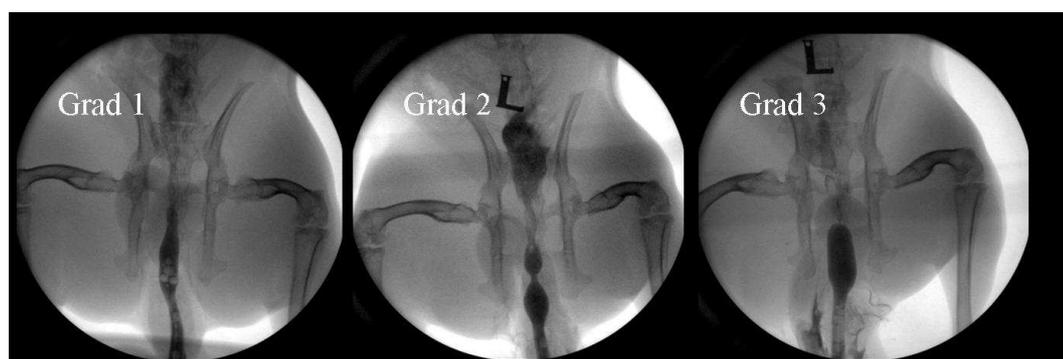


Abbildung 47: Stenosegrad 1-3 (röntgenologische Beurteilung)

Ist die Weite an der Stenoseposition größer als 50% der Gesamtbreite, handelt es sich um eine Stenose Grad 1. Bei weniger als 50% liegt ein Stenosegrad 2 vor. Handelt es sich um einen subtotalen Verschluss mit einem Restlumen unter 10%

bezeichnet man diesen Zustand als Stenosegrad 3.

9.4. Statistische Auswertung

Sämtliche erhobene Daten werden mit SPSS Version 18 ausgewertet (SPSS, Inc, Chicago, IL, USA) und im Ergebnisteil dargestellt. Alle Ergebnisse werden sowohl in Tabellenform als auch mittels Diagrammen dargestellt.

In den Versuchsreihen soll die Verringerung des Urethrallumens in Bezug auf das Ausgangsvolumen untersucht werden, dazu werden am Tag 35 bzw. am Tag 63 nach Kathetereinlage Urethroskopien durchgeführt. Als Nebenzielgrößen werden histologische Befunde und Ergebnisse von CUG-Messungen betrachtet.

Im Rahmen deskriptiver Analysen werden für quantitative Größen Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet bzw. bei qualitativen Merkmalen absolute und relative Häufigkeiten bestimmt.

Da die Fallzahl mit $n = 18$ gering ist, kann nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden. Für die Auswertung werden daher nichtparametrische Test für quantitative Merkmale angewendet. Explorativ ist der Vergleich quantitativer Merkmale zwischen Versuchs- und Kontrolltieren einmal mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests für unverbundene Stichproben innerhalb mehrerer Gruppen bzw. mittels Mann-Whitney-U-Tests (U-Test) für den Vergleich von 2 Gruppen untereinander vorgesehen. Der Vergleich qualitativer Parameter zwischen den Untersuchungsgruppen soll mit dem Chi-Square-Test für mehr als 2 Gruppen bei unverbundenen Merkmalen und mit dem exakten Test von Fisher für 2 Gruppen vorgenommen werden. Wenn für den Chi-Square-Test für mehrere unabhängige Stichproben die Voraussetzungen nicht gegeben sind (die erwarteten Häufigkeiten sind unter 5 und die beobachteten Häufigkeiten sind teilweise gleich 0) muss der exakte Test nach Fisher angewendet werden. Die Korrelationsanalyse wird für quantitative Merkmale mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten nach Pearson und für ordinalskalierte und ordinalskalierte Merkmale oder einem metrischen und einem ordinalskalierten nach Spearman durchgeführt.

Da es sich um explorative Untersuchungen handelt, werden alle statistischen Analysen zum Signifikanzniveau von 5% ($p < 0,05$) vorgenommen.

Die Daten werden in Balkendiagrammen und Boxplots graphisch dargestellt. Die Ausreißer, die die außerhalb der Box liegenden Werte darstellen, werden als

Kreise oder Sterne dargestellt.

Aufgrund der geringen Fallzahl werden auch bei ordinalskalierten Parametern Mittelwerte gebildet, obwohl dies normalerweise nicht üblich ist, um eine Verteilung der Merkmale innerhalb der Gruppen zu verdeutlichen (Stenosegradiententwicklung Tag 28-63, Entzündungsparameter, Fibrosegrad, α -SMA-Grad).

Die Untersuchungen werden nur für die „Urethrotomia interna Gruppe“ durchgeführt. Die statistische Auswertung der anderen Gruppen erfolgt außerhalb dieser Arbeit und ist noch nicht abgeschlossen.

IV. ERGEBNISSE

1. Überlebensrate

Insgesamt ist im Verlauf der Studie in der „Urethrotomia interna Gruppe“ ein Ausfall von 4 Tieren zu verzeichnen. Postoperativ versterben am Tag 28 zwei Tiere nach der Narkose. Zwei weitere Tiere haben sich den eingelegten Katheter vor Ablauf der einwöchigen Einlagezeit trotz Halskragen selbst gezogen. Eine erneute Einlage der Katheter war nicht mehr möglich. Daher mussten diese Tiere euthanasiert werden. Eine Sektion der Tiere wurde nicht durchgeführt.

2. Klinische Untersuchung der Tiere

Alle Kaninchen zeigten 1 bis 2 Tage nach der Strikturinduktion ein geringgradig gestörtes Allgemeinbefinden. Einige Tiere hatten eine reduzierte Futter- und Wasseraufnahme. Der Urin war stellenweise blutig. Am Tag 28 nach Kathetereinlage verhalten die Tiere sich aufgrund des Halskragens und des fixierten Blasenkatheters ebenfalls geringgradig gestört. Die Kaninchenböcke versuchen teilweise den Katheter durch Pressen zu entfernen. Das Präputium und die Penisspitze sind postoperativ gerötet und geschwollen. Diese Symptome klingen sofort nach der Katheterentfernung ab.

3. Laserdaten Tag 0

Bei der Strikturinduktion mit dem Diodenlaser ($\lambda = 1470 \text{ nm}$) werden den 18 Tieren im Mittel $107 (\pm 3,0)$ Joule, d.h. 10 Watt innerhalb von im Mittel $10,2 \text{ s} (\pm 0,30)$ verabreicht.

4. Operationsdauer

Die reine Operationszeit ist im Mittel bei $17,0 \text{ min} (\pm 4,0)$ am Tag 0, bei $20,0 \text{ min} (\pm 3,0)$ am Tag 28, am Tag 35 wird der Katheter innerhalb von $6,0 \text{ min} (\pm 2,0)$ entfernt.

5. Ergebnisse der röntgenologischen und endoskopischen Auswertung

Die endoskopische Untersuchung der Harnröhre erfolgt an allen operativen Tagen (Tag 0, 28, 35, 63), wobei jeweils auch Kontrastmitteldarstellungen der Harnröhre durchgeführt wurden. Quantitativ wird der Stenosegrad über den Umfang des Lumens bestimmt. Die Urethrozystoskopie wird mittels Video festgehalten. Diese Daten dienen ebenfalls zur Beurteilung des Stenosegrades.

5.1. Vergleich der Messmethoden des Strikturgrades

Der Stenosegrad kann endoskopisch, röntgenologisch und histologisch (Kapitel III. 9.3.) evaluiert werden. Vergleicht man die Daten, fällt auf, dass die erhobenen Daten des Stenosegrades innerhalb der Messmethoden nicht übereinstimmen.

Nr.	Stenosegrad	Stenosegrad	Stenosegrad	Stenosegrad	Urothel Umfang (mm)
	Tag 28 E	Tag 63 E	Tag 28 R	Tag 63 R	
1	3	1	3	1	13,62
2	3	3	3	3	2,87
3	3	2	3	1	9,53
4	3	3	3	3	5,41
5	3	3	3	3	4,36
6	3	2	3	2	8,61
7	3	2	3	2	5,09
8	3	2	3	2	9,86
9	3	1	3	1	1,11
10	3	3	3	2	6,64
11	3	3	3	3	4,71
12	3	2	3	2	8,26
13	2	2	2	1	11,34
14	1	1	1	1	13,35
15	1	1	2	1	7,98
16	3	2	3	2	7,48
17	3	3	3	3	3,03
18	3	3	3	3	2,52

Tabelle 4: Datentabelle der Stenosegrade (E: endoskopisch, R: röntgenologisch)

Für die histologischen Messdaten wird der Mittelwert und die Standardabweichung gebildet und daraus der Stenosegrad ermittelt.

5.1.1. Übereinstimmung der Verfahren (Endoskopisch – Röntgenologisch)

Bei einem Vergleich zwischen dem endoskopischen und den röntgenologischen StrikTURgrad gibt es eine Übereinstimmung von 77,7% (n = 14). 4 Tiere (22,2%) stimmen nicht miteinander überein. Wie in Tabelle 5 dargestellt, zeigen 3 Tiere (Nr. 3, Nr. 10, Nr. 13) (16,7%) im CUG am Tag 63 einen geringeren Stenosegrad als endoskopisch zu verifizieren ist. Ein Tier (Nr. 15) (0,05%) hat am Tag 28 im CUG einen höheren Stenosegrad als in der Videoendoskopie.

Nr.	Stenosegrad	Stenosegrad	Stenosegrad	Stenosegrad
	endoskopisch Tag 28	endoskopisch Tag 63	röntgenologisch Tag 28	röntgenologisch Tag 63
<u>3</u>	3	2	3	1
<u>10</u>	3	3	3	2
<u>13</u>	2	2	2	1
<u>15</u>	1	1	2	1

Tabelle 5: Vergleich Stenosegrad Endoskopisch- Röntgenologisch

Tier Nr. 3 hat in der Videoendoskopie und im CUG am Tag 28 einen Stenosegrad 3. Am Tag 63 allerdings unterscheiden sich die verschiedenen Messverfahren. Wie in Abbildung 48 zu sehen ist, zeigt das endoskopische Bild einen Stenosegrad 2 (mehr als 50% Lumeneinengung, mit dem Endoskop nicht zu passieren).



Abbildung 48: Nr. 3 (Bild 1: Tag 28, Stenosegrad 3; Bild 2: Tag 63 Stenosegrad 2)

Im CUG (Abbildung 49) zeigt sich hingegen ein Stenosegrad 1 (weniger als 50% Lumeneinengung, mit dem Endoskop zu passieren).

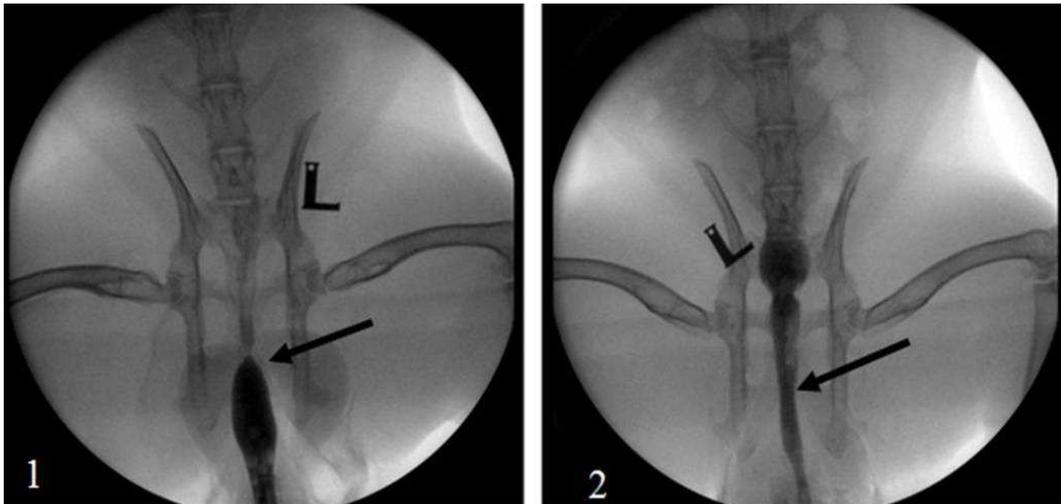


Abbildung 49: Nr. 3 (Bild 1: Tag 28, Stenosegrad 3; Bild 2: Tag 63, Stenosegrad 1)

5.1.2. Übereinstimmung der Verfahren (Endoskopisch – Metrisch)

Der histologische oder metrische Stenosegrad am Tag 63 wird mit Hilfe des Lumens der Harnröhre bestimmt (Kapitel III.7.1.). Mit Hilfe des Mittelwerts und der Standardabweichung des Lumenumfangs wird die Einteilung der Stenosegrade vorgenommen.

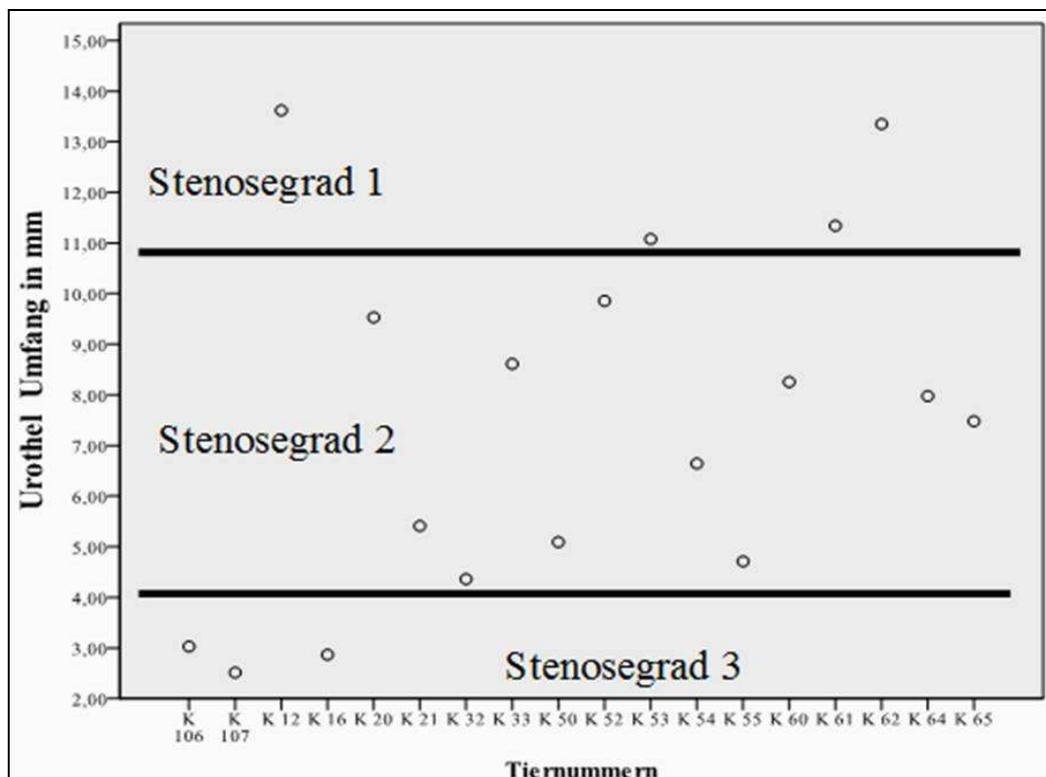


Diagramm 1: Einteilung der Stenosegrade nach dem Umfang des Urothels

Das Lumen insgesamt hat einen Mittelwert von 7,54 mm (\pm 3,48 mm). Alle Tiere,

die einem Umfang des Urothels innerhalb dieses Mittelwert (\pm Standardabweichung) haben, haben einen Stenosegrad 2. Tiere mit einem Lumenumfang kleiner als 4,06 mm werden als Stenosegrad 1 bezeichnet. Über 11,02 mm Umfang wird ein Stenosegrad 3 zugeteilt. 6 Tiere (33,3%) stimmen nach dieser metrischen Einteilung mit der endoskopischen Einteilung nicht überein. 12 Tiere (66,66%) haben eine Übereinstimmung der Stenosegrade. 5 dieser 6 Tiere (83,33%) haben am Tag 63 einen niedrigeren Stenosegrad beim Ausmessen des Umfangs als in der endoskopischen Auswertung. 1 Tier (16,66%) hat hingegen einen höheren Stenosegrad als in der Endoskopie zu sehen ist.

5.1.3. Übereinstimmung der Verfahren (Metrisch – Röntgenologisch)

Vergleicht man die metrischen Daten von Tag 63 mit den Stenosegraden nach der röntgenologischen Einteilung von Tag 63 gibt es bei 5 Tieren (27,7%) keine Übereinstimmung. 13 Tiere (72,2%) haben eine Übereinstimmung in Bezug auf den Stenosegrad. Bei 3 Tieren (60,0%) ist der metrisch bestimmte Stenosegrad höher. 2 Tiere (40,0%) weisen im hingegen einen geringeren Stenosegrad als im CUG auf.

5.1.4. Schlussfolgerung des Vergleichs der Messmethoden

Vergleicht man die verschiedenen Messmethoden des Stenosegrades untereinander, gibt es zwischen dem endoskopisch festgelegten Stenosegrad und dem Stenosegrad nach dem CUG die höchste Übereinstimmung ($n = 14$ bzw. 77,7%).

Übereinstimmung der Messmethoden			
Messmethoden	endoskopisch-röntgenologisch	endoskopisch-metrisch	röntgenologisch-metrisch
n (Anzahl)	14	12	13

Tabelle 6: Vergleich der Messmethoden des Strikturgrade

Hierbei werden Tag 28 und Tag 63 miteinander verglichen. Die metrischen Daten können nur mit den Daten von Tag 63 verglichen werden. Eine Übereinstimmung zwischen dem metrisch und dem endoskopisch bestimmten Stenosegrad liegt bei 66,66% ($n = 12$). Der metrische und der röntgenologisch festgelegte Stenosegrad

stimmen miteinander zu 72,2% (n = 13) überein. Im Folgenden wird mit den endoskopisch festgelegten Stenosegraden gearbeitet, da diese durch die Videoendoskopie objektiv zu beurteilen sind und Daten von Tag 28 und von Tag 63 (Stenosegrad-Entwicklung) vorliegen.

5.2. Reproduzierbarkeit der Lokalisation der Stenoseposition

Die Strikturinduktion wird 1 bis 2 cm distal des *Colliculus seminalis* vorgenommen. Die Höhe der Striktur (Lokalisation) wird ermittelt, indem das Endoskop bestmöglich unmittelbar auf Höhe der Striktur platziert wird und eine Röntgenaufnahme angefertigt wird. Diese Art der Lokalisation hat sich als sinnvoll erwiesen, da bei geringgradigen Strikturen die genaue Lokalisation nicht immer im CUG möglich ist. Im CUG lassen sich Aussagen über die Länge und die Ausprägung der Stenose treffen, aber der exakte Anfangs- und Endpunkt der Narbe ist schwer darzustellen. Wie in Abbildung 50 dargestellt wird die Position der Stenose entweder im CUG oder mit einem Röntgenbild (Endoskop prästenotisch) dargestellt.

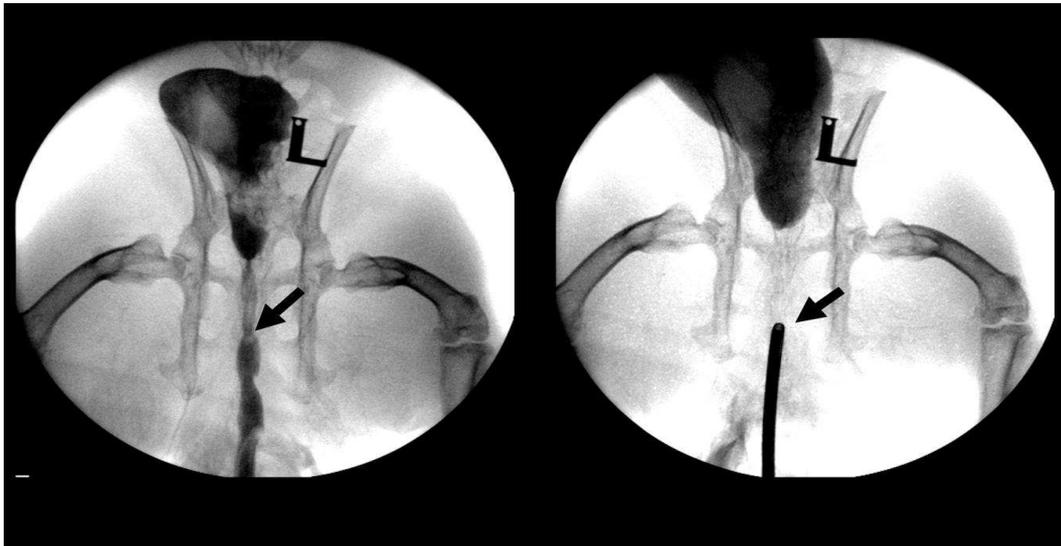


Abbildung 50: Messmethode der Stenoseposition (Pfeile auf Stenoseposition, linke Abb.: CUG; rechte Abb.: Spitze des Endoskopschafts zeigt Stenosestelle an)

Das Diagramm 2 veranschaulicht das Verhalten der Stenoseposition zwischen den verschiedenen Tieren am Tag 0, Tag 28, Tag 63. Die Höhe der Striktur wird, wie in Kapitel III.7.3 beschrieben, ausgemessen. Der Mittelwert der Stenoseposition aller Tiere liegt am Tag 0 bei 1,95 cm ($\pm 0,37$) distal der Gerade zwischen den beiden Hüftköpfen. Am Tag 28 bei 1,99 cm ($\pm 0,38$) und am Tag 63 bei 2,05 cm ($\pm 0,53$).

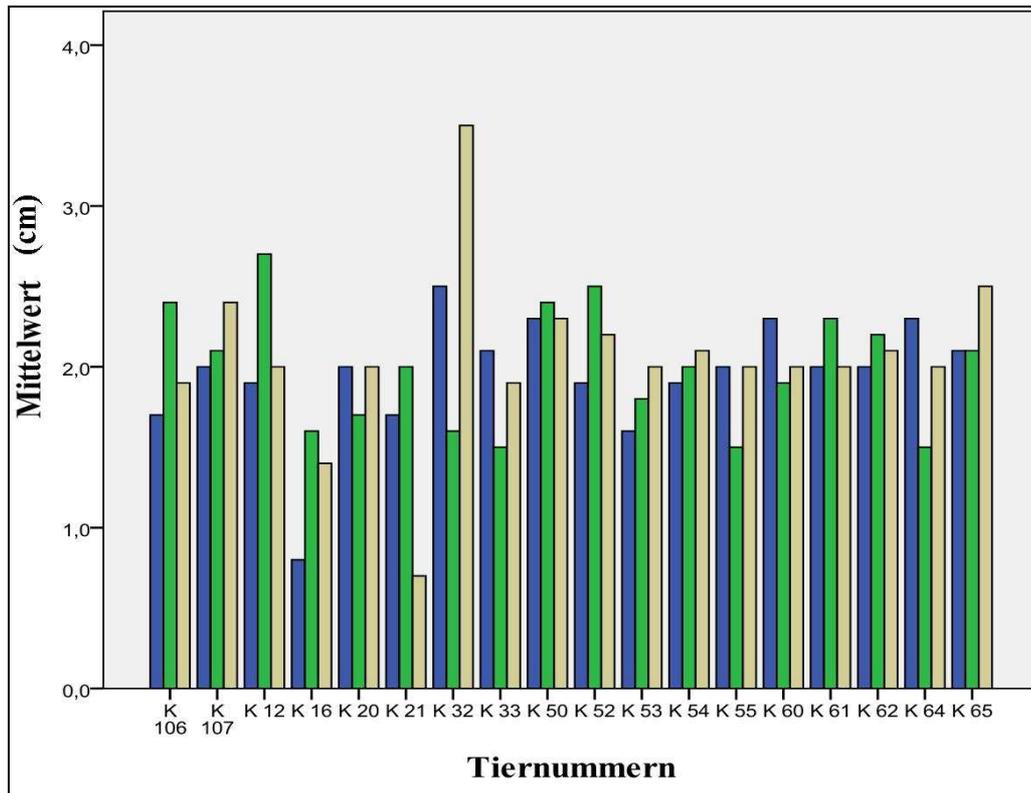


Diagramm 2: Position der Stenose der einzelnen Tiere im Endoskop (blau: Tag 0, grün: Tag 28, braun: Tag 63)

Im CUG kann oftmals nicht der genaue Wert für die Stenoseposition angegeben werden. Ist die Stenose langstreckig, wird ein Mittelwert gebildet. Dadurch ergibt sich für alle Daten der Stenoseposition im CUG ein Wert. Vergleicht man die Ergebnisse der Lokalisation im Endoskop mit den Werten der Lokalisation der Stenoseposition im CUG, so ergibt sich folgende Übereinstimmung.

Am Tag 0 stimmen 7 Tiere (38,9%) mit beiden Messmethoden miteinander überein. Am Tag 28 3 Tiere (16,6%) und am Tag 63 4 Tiere (22,2%). Die Lokalisation der Stenoseposition im CUG ist in 75% der Fälle näher in Richtung Blase. 2 Tiere haben am Tag 28 eine Striktur von 0,5 cm. 5 von 18 Tieren hatten am Tag 63 eine Striktur mit einer Länge von 0,3 bis 1,5 cm.

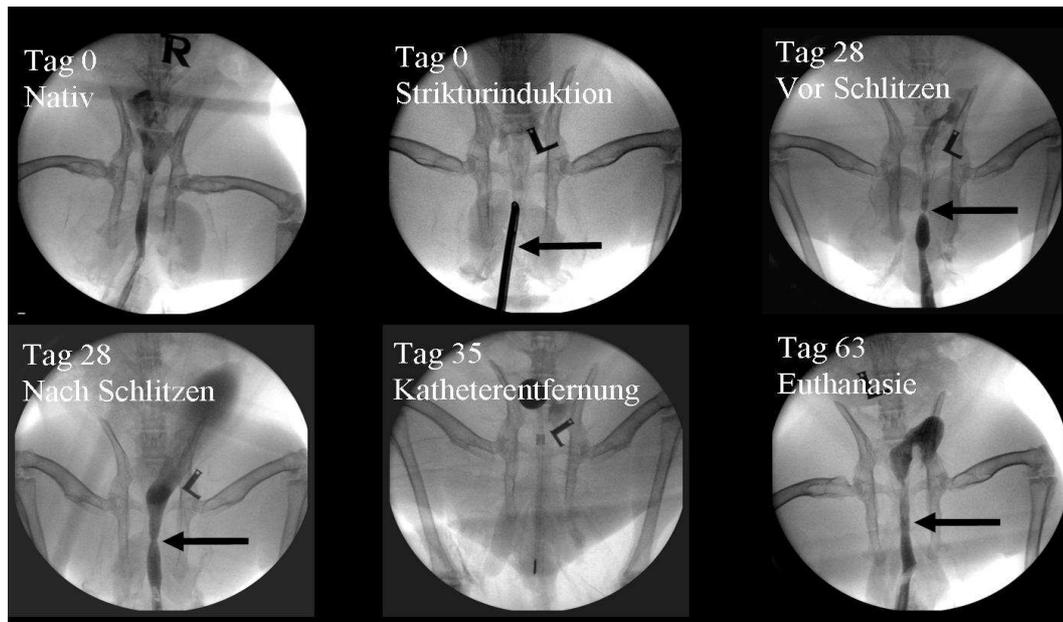


Abbildung 51: Beispiel für die Lokalisation der Striktur eines Versuchstieres im CUG

5.3. Ergebnis der Strikturinduktion

4 Tiere haben nach der Strikturinduktion keine sichtbare Narbe entwickelt (Tabelle 7). Laut Tabelle 4 sind dies die Tiere Nr. 2, Nr. 7, Nr. 11, Nr. 14.

1. Strikturinduktionsversuch: Bei dem ersten Tieren (Nr. 2), welches am Tag 28 keine Striktur ausgebildet, ist der Laserschaden nicht exakt platziert gewesen. Hier wird die Laserenergie primär im Bereich des Colliculus seminalis verabreicht. Daher wird im Folgenden versucht den Laserschaden mit einer zirkulären Koagulationszone zu platzieren. Aufgrund der Erfahrung, dass ein nicht zirkulärer Schaden nicht zu einer Narbe führt, wird bei Tieren, die nicht primär zirkulär gelasert werden konnten, mehrfach in der gleichen Sitzung am Tag 0 gelasert (bis eine zirkuläre Koagulationszone entsteht). Dennoch führt auch diese multiple Laseranwendung nicht zur Ausbildung der gewünschten Ringstriktur. Von den 3 Tieren (Nr. 7, Nr. 11, Nr. 14), die am Tag 0 mehrfach gelasert wurden, wird ein Tier zwei Mal (Nr. 14: 125 J, 11,9 sec) und zwei Tiere insgesamt drei Mal (Nr. 7: 191 J, 18,1 sec; Nr. 11: 159 J, 15,1 sec) behandelt. Alle 4 Tiere werden, nachdem sie keine Striktur am Tag 28 ausbilden, wieder in den Versuch aufgenommen und erneut gelasert.

2. Strikturinduktionsversuch: Beim 2. Versuch entwickeln am Tag 28 drei Tiere eine Striktur Grad 3 (Nr. 2, Nr. 7, Nr. 11). Bei einem Tier (Nr. 14) wird beim 2. Versuch wiederholt kein zirkulärer Schaden platziert. Dieses Tier entwickelt am

Tag 28 eine Stenose Grad 1.

	1. Strikturinduktionsversuch	2. Strikturinduktionsversuch
Stenosegrad	<ul style="list-style-type: none"> • 12 Tiere - Grad 3 • 1 Tier - Grad 2 • 1 Tier - Grad 1 • 4 Tiere ohne Stenose 	<ul style="list-style-type: none"> • 3 Tiere - Grad 3 • 1 Tier - Grad 1
Tag 28		

Tabelle 7: Strikturgradentwicklung am Tag 28

Die Abbildung 52 zeigt einen nicht zirkulären Laserschaden. Das koagulierte Gewebe erscheint weiß (Koagulationszone). Liegt die Laserfaser nicht zirkulär am Gewebe an, wird die Laserenergie in die Spülflüssigkeit und nicht an das Gewebe abgegeben. An der unbehandelten Stelle kommt es zu keiner Narbeneinziehung.

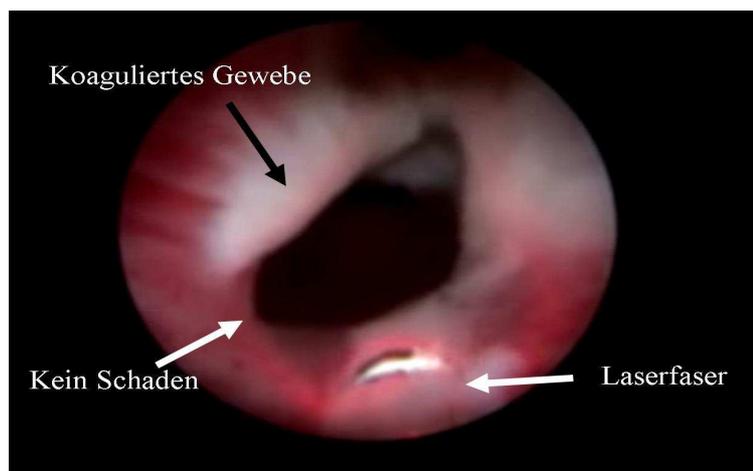


Abbildung 52: Laserschaden an Tag 0 (Schaden nicht zirkulär)

5.4. Stenosegrad Tag 28

Der Stenosegrad am Tag 28 wird endoskopisch bestimmt.

Stenosegrad	Tag 28
1	2
2	1
3	15

Tabelle 8: Stenosegrad (1, 2, 3) am Tag 28 (verblindet dargestellt)

Das Ergebnis der Stenosegrade am Tag 28 wird verblindet dargestellt (Tabelle 8).

Am Tag 28 haben 15 von 18 Tieren eine Stenose Grad 3 (83,4%). Am Tag 28 haben 15 von 18 Tieren eine Stenose Grad 3 (83,4%). 2 von 18 Tiere haben eine Stenose Grad 1 (11,1%) und ein Tier hat eine Stenose Grad 2 (5,6%).

5.5. Stenosegrad Tag 63

Die Ergebnisse der Stenosegrade am Tag 63 werden verblindet dargestellt (Tabelle 9). 7 von 18 Tieren entwickeln eine Grad 3 Stenose (38,9%), 7 weitere Tiere eine Grad 2 Stenose (38,9%) und 4 Tiere eine Grad 1 Stenose (22,2%).

Stenosegrad	Tag 63
1	4
2	7
3	7

Tabelle 9: Stenosegrad (1, 2, 3) am Tag 63 (verblindet dargestellt)

5.6. Entwicklung des Stenosegrades (Tag 28-Tag 63)

Im Folgenden wird die Entwicklung der Stenosegrade von Tag 28 bis zum Tag 63 dargestellt. Hierbei handelt es sich nicht um die individuelle Stenosegrad-Entwicklung der einzelnen Tiere, sondern es wird allein die Anzahl der Tiere mit einem bestimmten Stenosegrad (1, 2, 3) betrachtet.

Anzahl der Tiere (n)	Stenosegrad Tag 28	Stenosegrad Tag 63
7	3	3
6	3	2
2	3	1
1	2	2
2	1	1

Tabelle 10: Stenosegrad-Entwicklung von Tag 28 bis Tag 63 (verblindet dargestellt)

Von Tag 28 bis zum Tag 63 hat sich kein Tier in Bezug auf den Stenosegrad verschlechtert. Entweder ist die Ausprägung der Stenose gleich geblieben oder die Tiere haben sich um einen oder zwei Stenosegrade verbessert (Tabelle 9). Die Darstellung der Entwicklung der Stenosegrade erfolgt verblindet. 10 von 18 Tiere

bleiben im Stenosegrad gleich (56%). 8 Tiere haben sich verbessert (44%), davon 6 Tiere (33%) um einen Stenosegrad und 2 Tiere (11%) um zwei Stenosegrade. Im Mittel beträgt der Stenosegrad am Tag 28 2,72 ($\pm 0,67$) und am Tag 63 2,17 ($\pm 0,68$). 7 Tiere mit einer hochgradigen Stenose am Tag 28 (Grad 3) verbesserten sich nicht innerhalb der Nachbeobachtungsphase.

6 weitere Tiere können sich von diesem hochgradigen Stenosegrad (Grad 3) am Anfang der Therapie bis zum Tag 63 verbessern. 2 Tiere entwickeln sich von einem hochgradigen Stenosegrad (Grad 3) zu einem geringgradigen Stenosegrad (Grad 1). Ein Tier blieb auf dem Niveau des Stenosegrad 2 während der 35 Tage nach Therapiebeginn. Die Strikturen von 2 weiteren Tieren bleibt von Tag 28 bis zum Tag 63 gleich (Grad 1).

5.7. Entwicklung des Stenosegrades (Tag 28 bis Tag 63) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)

Die Entwicklung der Stenosegrade innerhalb der verschiedenen Dosis-Gruppen (0, 15, 30 Gy) ist in Tabelle 11 dargestellt. Die Darstellung der Ergebnisse ist nunmehr entblindet.

Dosis (Gy)	Tag 28	Tag 63	Anzahl der Tiere
0	3	3	1
	3	1	2
	1	1	2
	2	2	1
15	3	3	2
	3	2	4
30	3	3	4
	3	2	2

Tabelle 11: Stenosegrad-Entwicklung in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)(entblindet)

Innerhalb der 15-Gy-Gruppe haben sich insgesamt 4 Tiere (66,6%) verbessert und 2 Tiere (33,3%) sind gleich geblieben. Bei der 30-Gy und der 0-Gy-Gruppe haben sich 2 Tiere verbessert (33,3%) und 4 Tiere (66,6%) sind gleich geblieben. Wie in Kapitel III.7.4 erläutert, wird hier der Mittelwert innerhalb der verschiedenen Gruppen in Abhängigkeit von der Dosis gebildet. Im Mittel sind die Stenosegrade

in der 15-Gy-Gruppe von Stenosegrad 3,0 ($\pm 0,0$) auf 2,33 ($\pm 0,52$), in der 30-Gy-Gruppe von 3,0 ($\pm 0,0$) auf 2,67 ($\pm 0,52$) und in der 0-Gy-Gruppe von 2,17 ($\pm 0,98$) im Mittel auf 1,5 ($\pm 0,84$).

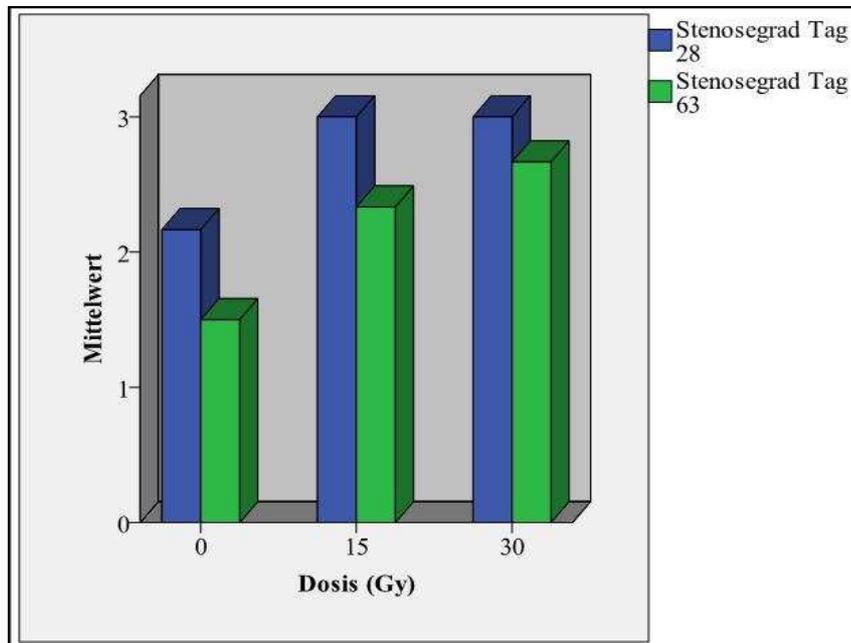


Diagramm 3: Mittelwerte des Stenosegrade in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30 Gy)

Durch die Randomisierung starten in der 0-Gy-Gruppe 3 Tiere (50%) mit einem anderen Stenosegrad in die Therapie (Tag 28 – Schlitzung/Kathetereinlage) als die Tiere der radioaktiven Gruppen. In den radioaktiven Gruppen starten alle Tiere am Tag 28 mit einem Stenosegrad 3. In der 0-Gy-Gruppe haben 2 Tiere den Stenosegrad 1 und 1 Tier den Stenosegrad 2. Ebenso finden sich in der 0-Gy-Gruppe diejenigen Tiere, welche sich innerhalb der 4 Wochen nach Katheterentfernung um 2 Stenosegrade verbessert haben.

6. Ergebnisse der histologischen Auswertung

Im Folgenden werden die histomorphometrischen und histopathologischen Ergebnisse dargestellt.

6.1. Histomorphometrische Ergebnisse

Die Messergebnisse des Urothel, des Bindegewebes (*Lamina propria*) und der Fläche und des Umfang des Harnröhrenlumens werden in Abhängigkeit von der Dosis und den Stenosegrad-Gruppen untersucht (Kapitel III.7.1)

6.1.1. Minimum und Maximum der Epitheldicke (μm)

Die Dicke des Epithels wird wie beschreiben ausgemessen. Die Werte werden in Abhängigkeit von den Dosis-Gruppen (0, 15, 30 Gy) und den Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3) untersucht.

6.1.1.1. Epitheldicke-Minimum (μm) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)

Dosis (Gy)	Mittelwert (μm)	Standardabweichung
0	14,13	5,89
15	14,02	8,17
30	22,37	8,62

Tabelle 12: Mittelwert und Standardabweichung der Epitheldicke Min (μm) innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30)

Das Minimum (Min) der Epitheldicke innerhalb der 18 Tiere liegt im Mittel bei $16,84 \mu\text{m}$ ($\pm 8,24$). Die Mittelwerte der 0-Gy-Gruppe und der 15-Gy-Gruppe sind nicht deutlich unterschiedlich. Die 0-Gy-Gruppe hat im Mittel $14,13 \mu\text{m}$ ($\pm 5,89$), die 15-Gy-Gruppe im Mittel $14,02 \mu\text{m}$ ($\pm 8,17$) und die 30-Gy-Gruppe im Mittel $22,37 \mu\text{m}$ ($\pm 8,62$). Es ergibt sich insgesamt ein Minimum bei $8,45 \mu\text{m}$ und ein Maximum bei $36,59 \mu\text{m}$. Der Kruskal-Wallis Test ist nicht signifikant ($p = 0,143$).

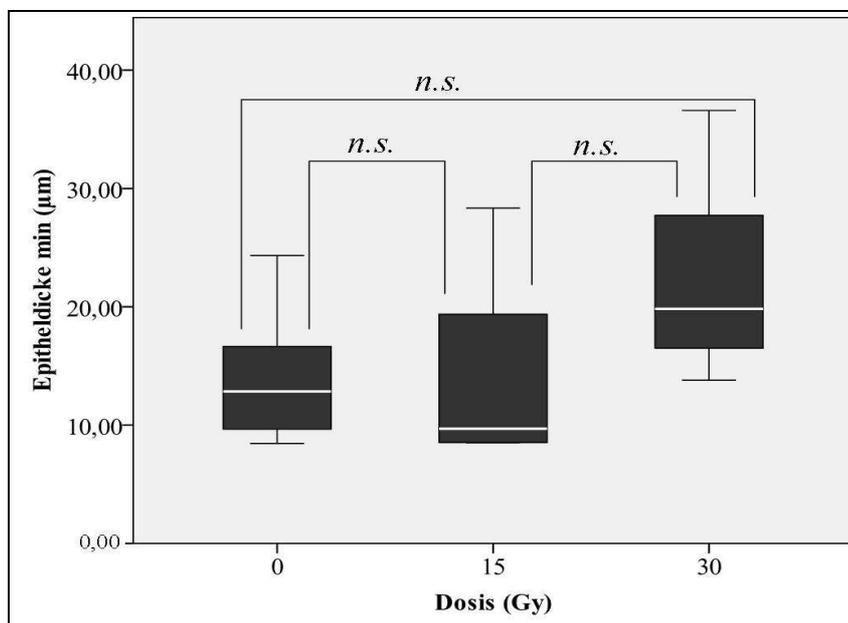


Diagramm 4: Das Boxplot stellt das Minimum der Epitheldicke in Abhängigkeit von der Dosis (Gy) dar. Die zentrale Linie (weiß) gibt den Median der gemessenen Werte an. Die Box markiert den 25.-75. Quartil. Signifikanzen sind keine vorhanden (n.s.).

6.1.1.2. Epitheldicke-Maximum (μm) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)

Wie bei der Epitheldicke min in Abhängigkeit von den Dosis-Gruppen liegen

auch hier die Mittelwerte der 0-Gy-Gruppe und der 15-Gy-Gruppe nicht weit auseinander. Die 0-Gy-Gruppe hat im Mittel eine Epitheldicke bei 45,63 μm ($\pm 26,39$), die 15-Gy-Gruppe von 48,65 μm ($\pm 29,54$) und die 30-Gy-Gruppe von 65,93 μm ($\pm 13,59$).

Dosis (Gy)	Mittelwert (μm)	Standardabweichung
0	45,63	26,39
15	48,65	29,54
30	65,93	13,59

Tabelle 13: Mittelwert und Standardabweichung der Epitheldicke Max (μm) innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30)

Der Kruskal-Wallis Test ist nicht signifikant ($p = 0,144$).

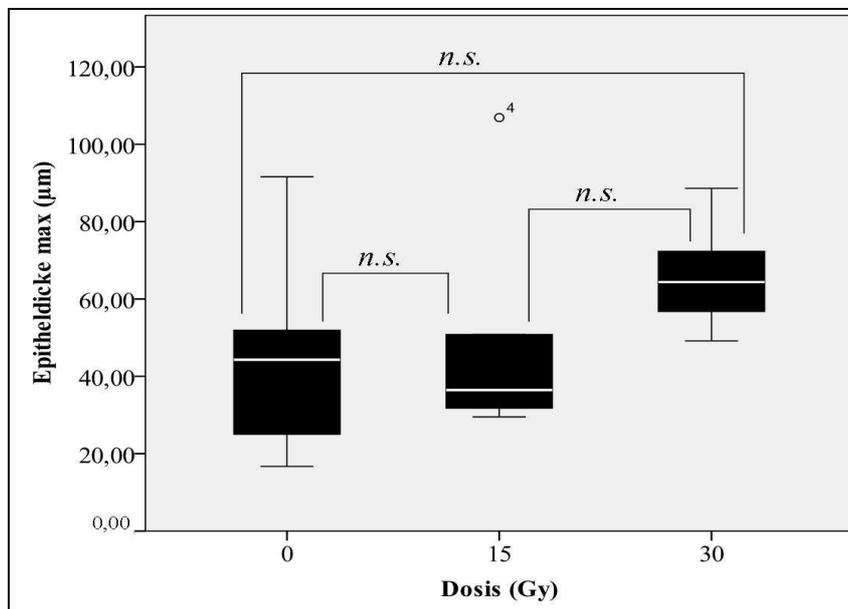


Diagramm 5: Das Boxplot stellt das Maximum der Epitheldicke in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30 Gy) dar. Die zentrale Linie der Box (weiß) gibt den Median der gemessenen Werte an. Die Box beschreibt den 25.-75. Quartil. „•“ beschreibt den Ausreißer in der 15-Gy-Gruppe. Signifikanzen sind nicht vorhanden (n.s.).

6.1.1.3. Epitheldicke-Minimum (μm) in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63)

Der Kruskal-Wallis Test zeigt innerhalb dieser 3 Gruppen keine Signifikanz ($p = 0,069$). Die Messwerte werden in Tabelle 14 zusammengefasst. Die Messwerte der Stenosegrad-1-Gruppe und der Stenosegrad-2-Gruppe in Bezug auf die minimale Epitheldicke liegen in einem ähnlichen Bereich. Der Mittelwert der Stenosegrad-3-Gruppe entspricht ungefähr dem Doppelten.

Stenosegrad	Mittelwert (μm)	Standardabweichung
1	12,70	3,70
2	13,36	5,72
3	22,68	9,35

Tabelle 14: Mittelwert und Standardabweichung der Epitheldicke Min (μm) innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

Die Epitheldicke im Minimum ist am Tag 63 bei den Tieren mit Stenosegrad 1 ($n = 4$) bei $12,70 \mu\text{m}$ ($\pm 3,70$). Bei Tieren mit Stenosegrad 2 ($n = 7$) bei $13,36 \mu\text{m}$ ($\pm 5,72$) und bei den Tieren mit Stenosegrad 3 ($n = 7$) bei $22,68 \mu\text{m}$ ($\pm 9,35$).

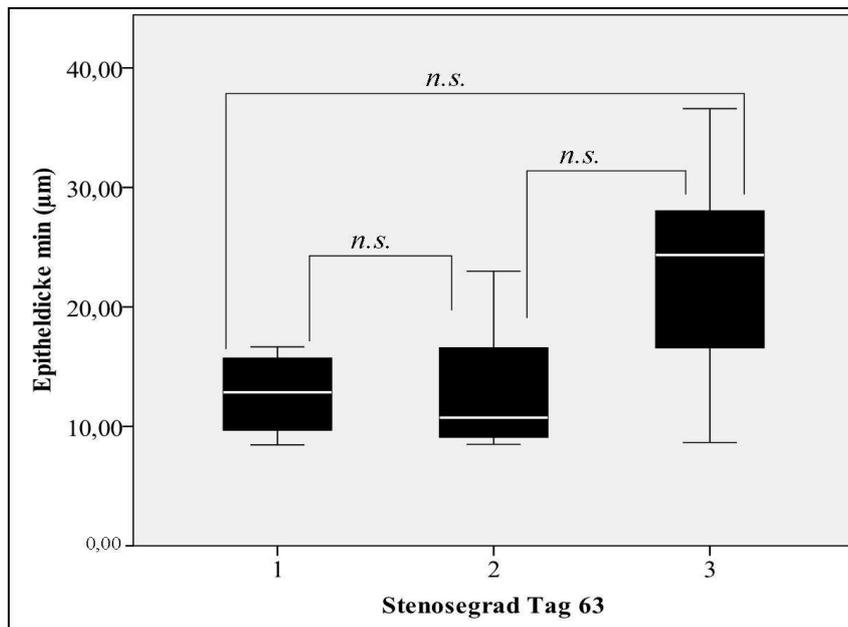


Diagramm 6: Das Boxplot stellt das Minimum der Epitheldicke in Abhängigkeit von den Stenosegraden am Tag 63 dar. Die zentrale Linie (weiß) gibt den Median der gemessenen Werte an. Die Box beschreibt den 25.-75. Quartil. Signifikanzen sind nicht vorhanden (n.s.).

6.1.1.4. Epitheldicke-Maximum (μm) in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63)

Wie in Tabelle 13 dargestellt, hat Stenosegrad 1 ($n = 4$) hat einen Mittelwert von $41,37 \mu\text{m}$ ($\pm 12,36$), Grad 2 ($n = 7$) hat einen Mittelwert von $40,5 \mu\text{m}$ ($\pm 17,08$) und Grad 3 ($n = 7$) hat einen Mittelwert von $73,18 \mu\text{m}$ ($\pm 24,21$). Ähnlich den Ergebnissen der minimalen Epitheldicke in Abhängigkeit vom Stenosegrad, liegt auch bei dieser Messung der Mittelwert der Stenosegrad-3-Gruppe ca. doppelt so hoch im Vergleich zu den anderen Gruppen.

Stenosegrad	Mittelwert (μm)	Standardabweichung
1	41,37	12,36
2	40,5	17,08
3	73,18	24,21

Tabelle 15: Mittelwert und Standardabweichung der Epitheldicke Max (μm) innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

Zwischen den Gruppen gibt es eine Signifikanz im Kruskal-Wallis Test ($p = 0,036$). Im U-Test unterscheiden sich die Tiere mit der Grad-2-Stenose von den Tieren mit der Grad-3-Stenose im Maximum des Urothels signifikant ($p = 0,018$).

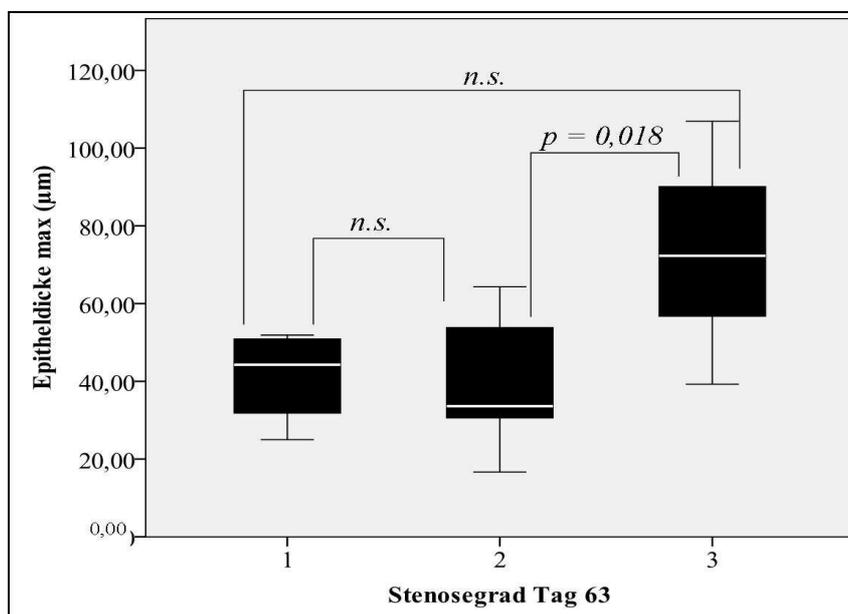


Diagramm 7: Das Boxplot stellt das Maximum der Epitheldicke in Abhängigkeit von den Stenosegraden am Tag 63 dar. Die zentrale Linie (weiß) gibt den Median der gemessenen Werte an. Die Box beschreibt den 25.-75. Quartil. Signifikanzen sind mit ihrem Signifikanzniveau angegeben.

Die Stenosegrad-1-Gruppe und die Stenosegrad-3-Gruppe sind nicht signifikant ($p = 0,059$), ebenso die Gruppen mit dem Stenosegrad-1 und dem Stenosegrad-2 ($p = 1,0$).

6.1.2. Umfang und Fläche des Lumens in (mm/mm^2)

6.1.2.1. Lumenumfang (mm) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)

Der Mittelwert des Lumenumfangs der 30-Gy-Gruppe liegt ca. bei der Hälfte des Umfangs der 0-Gy-Gruppe.

Dosis (Gy)	Mittelwert (mm)	Standardabweichung
0	10,28	3,54
15	6,80	2,05
30	5,53	3,14

Tabelle 16: Mittelwert und Standardabweichung des Lumenumfangs (mm) innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30)

Die 0-Gy-Gruppe hat mit 10,28 mm (\pm 3,54) den größten Umfang. Die 15-Gy-Gruppe hat mit 6,80 mm (\pm 2,05) einem mittleren Umfang. Der Umfang der 30-Gy-Gruppe liegt bei 5,53 mm (\pm 3,14). Im Kruskal-Wallis Test besteht keine Signifikanz ($p = 0,77$) bezüglich der verschiedenen Dosis-Gruppen (0, 15, 30 Gy).

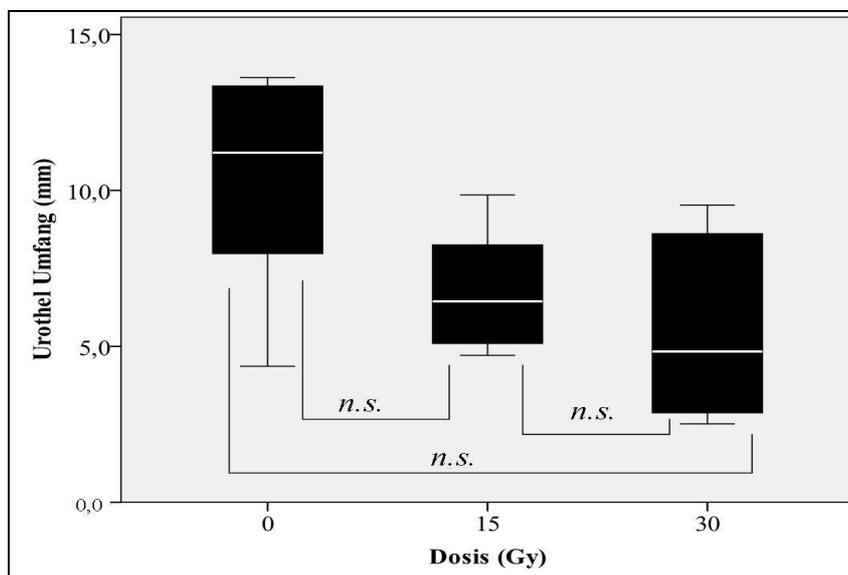


Diagramm 8: Das Boxplot stellt den Umfang des Lumens in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30 Gy) dar. Die zentrale Linie (weiß) gibt den Median der gemessenen Werte an. Die Box beschreibt den 25.-75. Quartil. Signifikanzen sind nicht vorhanden (n.s.).

6.1.2.2. Lumenfläche (mm²) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)

Die Mittelwerte der Fläche des Lumens in mm² werden in Bezug auf die verschiedenen Kathetergruppen untersucht. Die 0-Gy-Gruppe zeigt hier, wie beim Umfang des Lumens, ein ähnliches Verhältnis zur 30-Gy-Gruppe.

Dosis (Gy)	Mittelwert (mm ²)	Standardabweichung
0	1,89	1,71
15	0,48	0,22
30	0,96	1,04

Tabelle 17: Mittelwert und Standardabweichung der Lumenfläche (mm²) innerhalb der Dosis-Gruppen

Die 0-Gy-Gruppe zeigt die größte Fläche mit 1,89 mm² (\pm 1,71). Die 15-Gy-

Gruppe hat eine Fläche von $0,48 \text{ mm}^2 (\pm 0,22)$ und die 30-Gy-Gruppe eine Fläche im Mittel von $0,96 \text{ mm}^2 (\pm 1,04)$. Zwischen den Gruppen besteht keine Signifikanz im Kruskal-Wallis Test ($p = 0,097$).

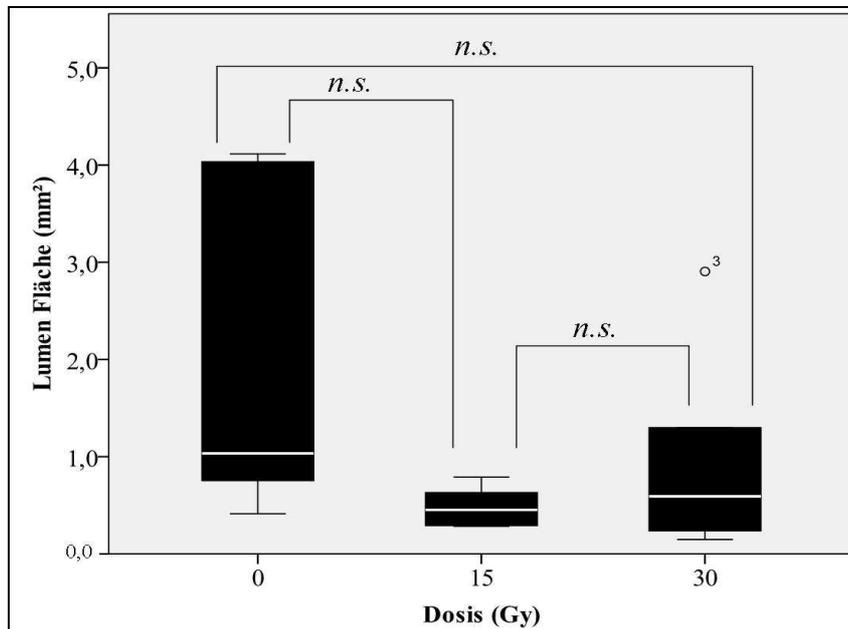


Diagramm 9: Das Boxplot stellt die Fläche des Lumens in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30 Gy) dar. Die zentrale Linie gibt den Median der gemessenen Werte an. Der Ausreißer in der 30-Gy-Gruppe ist mit „•³“ dargestellt. Die Box beschreibt den 25.-75. Quartil. Signifikanzen sind nicht vorhanden (n.s.).

6.1.2.3. Lumenumfang (mm) in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63)

Die Mittelwerte des Lumenumfangs der Harnröhre in Bezug auf die Stenosegrade am Tag der Euthanasie verhalten sich wie folgt: Der Lumenumfang der Stenosegrad-1-Gruppe ist im Mittel annähernd dreifach so groß wie der Mittelwert der Stenosegrad-3-Gruppe.

Stenosegrad	Mittelwert (mm)	Standardabweichung
1	11,50	2,61
2	8,59	1,98
3	4,22	1,51

Tabelle 18: Mittelwert und Standardabweichung des Lumenumfangs (mm) innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

In der Stenosegrad-1-Gruppe ist der Mittelwert $11,50 \text{ mm} (\pm 2,61)$. Die Stenosegrad-2-Gruppe hat einen niedrigeren Mittelwert von $8,59 \text{ mm} (\pm 1,98)$ und die Stenosegrad-3-Gruppe hat einen Mittelwert von $4,22 \text{ mm} (\pm 1,51)$. Zwischen den Gruppen gibt es im Kruskal-Wallis Test eine Signifikanz ($p = 0,003$). Im U-Test lässt sich zwischen Stenosegrad-1 und Stenosegrad-3 eine Signifikanz

($p = 0,008$) errechnen, ebenso zwischen Grad-2 und Grad-3 ($p = 0,004$). Zwischen Grad-2 und Grad-1 besteht keine Signifikanz ($p = 0,131$).

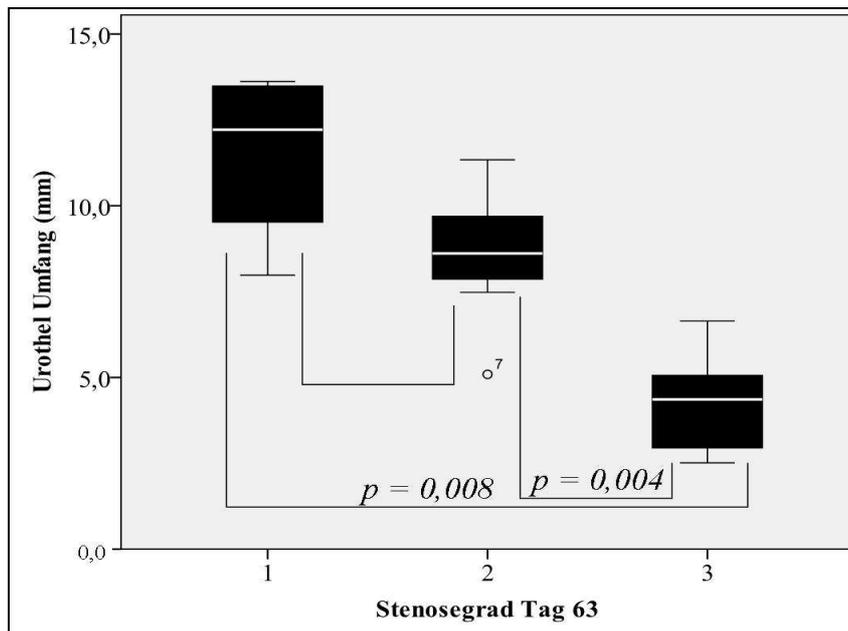


Diagramm 10: Das Boxplot stellt den Umfang des Urothels in Abhängigkeit von den Stenosegraden dar. Die zentrale Linie (weiß) gibt den Median der gemessenen Werte an. Die Box beschreibt den 25.-75. Quartil. Der Ausreißer in der Stenosegrad-2-Gruppe wird mit „•⁷“ dargestellt. Signifikanzniveaus sind mit $p = 0,008$ und $p = 0,004$ angegeben.

6.1.2.4. Lumenfläche (mm²) in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63)

Der Mittelwert der Fläche der Stenosegrad-1-Gruppe ist gegenüber der Stenosegrad-3-Gruppe um mehr als das 5fache erhöht. Die Mittelwerte der Fläche des Lumens in Abhängigkeit vom Stenosegrad sind innerhalb der Stenosegrad-1-Gruppe bei 2,54 mm ($\pm 1,78$). In der Stenosegrad-2-Gruppe 0,9 mm ($\pm 0,90$) und in der Stenosegrad-3-Gruppe bei 0,4 mm ($\pm 0,3$).

Stenosegrad	Mittelwert (mm ²)	Standardabweichung
1	2,54	1,78
2	0,9	0,9
3	0,4	0,3

Tabelle 19: Mittelwert und Standardabweichung der Lumenfläche (mm²) innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

Zwischen den Gruppen gibt es eine Signifikanz ($p = 0,036$) im Kruskal-Wallis Test. Zwischen Stenosegrad-1 und Stenosegrad-3 besteht eine Signifikanz ($p = 0,023$).

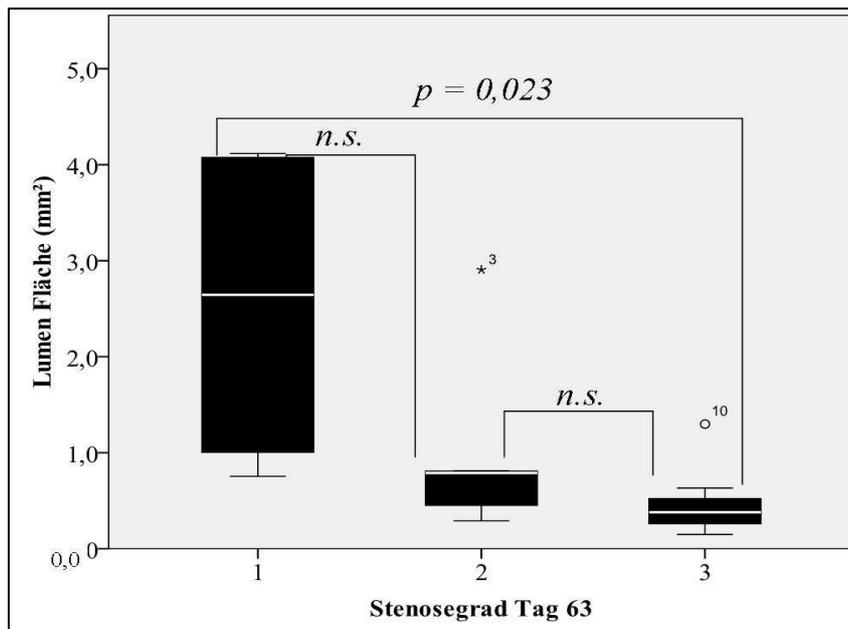


Diagramm 11: Das Boxplot stellt die Urothelfläche in Abhängigkeit von den Stenosegraden dar. Die zentrale Linie gibt den Median der gemessenen Werte an. „°¹⁰“ gibt den Ausreißer in der Stenosegrad-3-Gruppe an, „*³“ den Ausreißer in der Stenosegrad-2-Gruppe. Die Box beschreibt den 25.-75. Quartil. Signifikanzen sind mit ihrem Signifikanzniveau angeben.

Zwischen Stenosegrad-1 und Stenosegrad-2 besteht keine Signifikanz im U-Test ($p = 0,089$), auch zwischen Stenosegrad-2 und Stenosegrad-3 besteht kein signifikanter Unterschied ($p = 0,14$).

6.1.3. Minimum und Maximum der Bindegewebedicke (mm)

6.1.3.1. Bindegewebedicke-Minimum (mm) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)

Die Dosis-Gruppen haben in Bezug auf die minimale Bindegewebedicke ähnliche Messwerte (Tabelle 20).

Dosis (Gy)	Mittelwert (mm)	Standardabweichung
0	0,34	0,13
15	0,63	0,24
30	0,56	0,29

Tabelle 20: Mittelwert und Standardabweichung der Bindegewebedicke Min (mm) innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30)

In der 0-Gy-Gruppe ist der Mittelwert bei 0,34 mm ($\pm 0,13$), in der 15-Gy-Gruppe bei 0,63 mm ($\pm 0,24$) und in der 30-Gy-Gruppe bei 0,56 mm ($\pm 0,29$). Zwischen den Gruppen zeigt sich keine Signifikanz ($p = 0,1$).

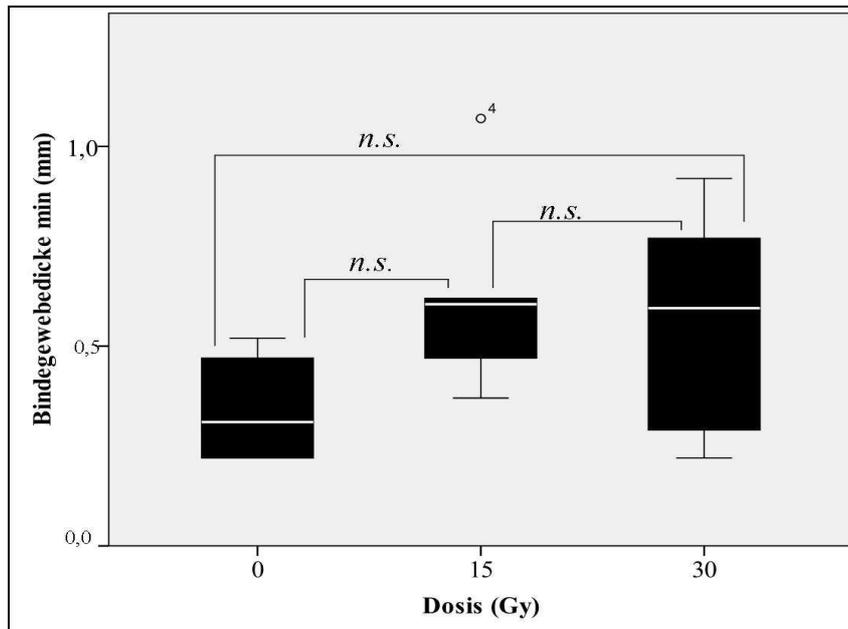


Diagramm 12: Das Boxplot stellt das Minimum der Bindegewebedicke in mm in Abhängigkeit von der Dosis (Gy) dar. Die zentrale Linie gibt den Median der gemessenen Werte an. Die Box beschreibt den 25.-75. Quartil. „⁴“ gibt den Ausreißer in der 15-Gy-Gruppe an. Signifikanzen sind mit ihrem Signifikanzniveau angeben.

6.1.3.2. Bindegewebedicke-Maximum (mm) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)

Zwischen den Gruppen zeigt sich keine Signifikanz ($p = 0,75$). Die Mittelwerte der Dosis-Gruppen im Bezug auf die maximale Bindegewebedicke sind ähnlich.

Dosis (Gy)	Mittelwert (mm)	Standardabweichung
0	1,12	0,33
15	1,06	0,19
30	0,99	0,39

Tabelle 21: Mittelwert und Standardabweichung der Bindegewebedicke Max (mm) innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30)

In der 0-Gy-Gruppe ist der Mittelwert bei 1,12 mm ($\pm 0,33$), in der 15-Gy-Gruppe bei 1,06 mm ($\pm 0,19$) und in der 30-Gy-Gruppe bei 0,99 mm ($\pm 0,39$).

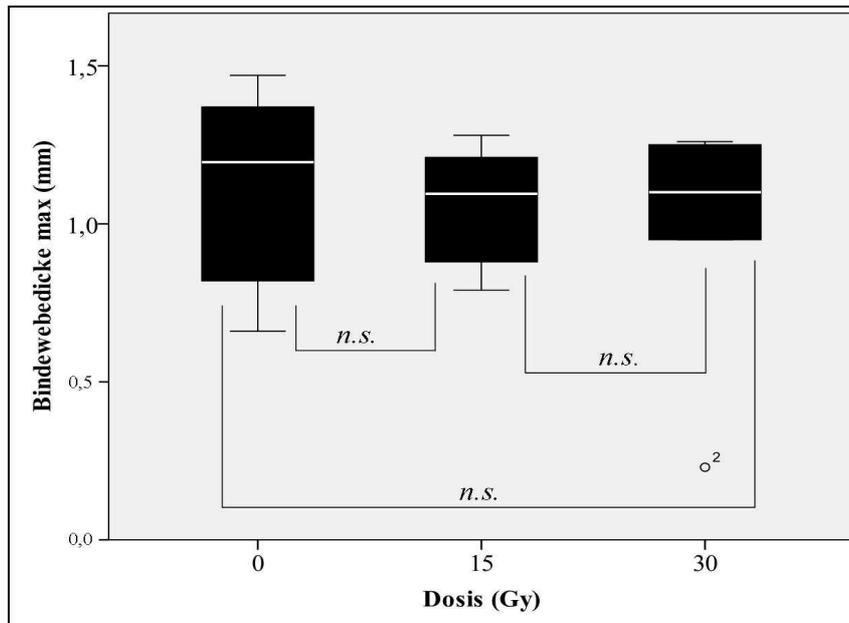


Diagramm 13: Das Boxplot stellt das Maximum der Bindegewebedicke in mm in Abhängigkeit von der Dosis (Gy) dar. Die zentrale Linie gibt den Median der gemessenen Werte an. „²“ gibt den Ausreißer in der 30-Gy-Gruppe an. Die Box beschreibt den 25.-75. Quartil. Signifikanzen sind nicht vorhanden (n.s).

6.1.3.3. Bindegewebedicke-Minimum (mm) in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63)

Die Mittelwerte der Stenosegrad-1-Gruppe und der Stenosegrad-2-Gruppe liegen in einem vergleichbaren Bereich. Der Mittelwert der Stenosegrad-3-Gruppe ist nur geringgradig höher. Wie in Tabelle 21 dargestellt, ist der Mittelwert der Stenosegrad-1-Gruppe 0,4 mm ($\pm 0,13$), der Mittelwert der Stenosegrad-2-Gruppe 0,46 mm ($\pm 0,16$) und in der Gruppe der Tiere mit einem Stenosegrad-3 am Tag 63 bei 0,61 mm ($\pm 0,34$).

Stenosegrad	Mittelwert (mm)	Standardabweichung
1	0,40	0,13
2	0,46	0,16
3	0,61	0,34

Tabelle 22: Mittelwert und Standardabweichung der Bindegewebedicke Min (mm) innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

Innerhalb der Gruppen zeigt sich bezüglich der minimalen Bindegewebedicke am Tag 63 keine Signifikanz ($p = 0,83$).

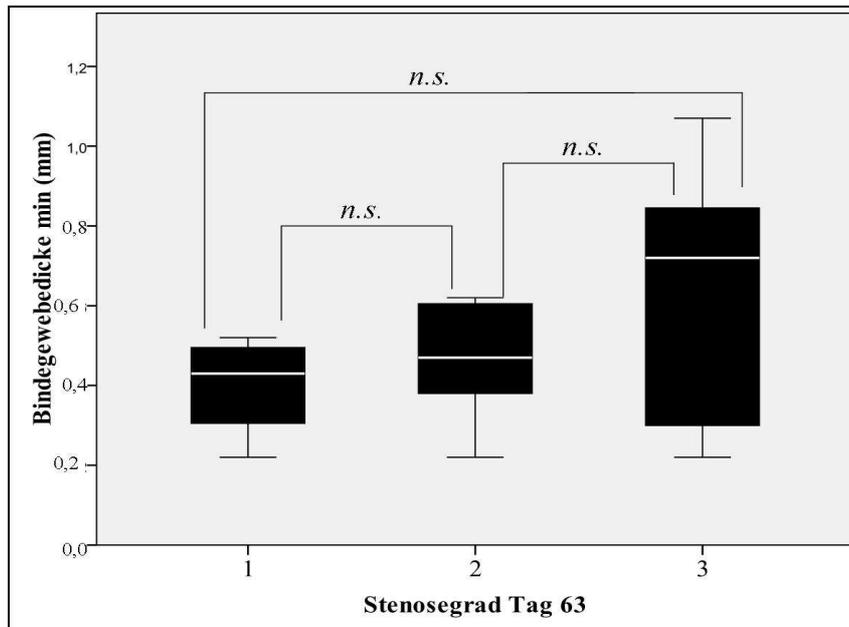


Diagramm 14: Das Boxplot stellt das Minimum der Bindegewebedicke in mm in Abhängigkeit von Stenosegrad Tag 63. Die zentrale Linie gibt den Median der gemessenen Werte an. Die Box beschreibt den 25.-75. Quartil. Signifikanzen sind nicht vorhanden (n.s.).

6.1.3.4. Bindegewebedicke-Maximum (mm) in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63)

Die maximale Bindegewebedicke unterscheidet sich in Bezug auf die verschiedenen Stenosegrade am Tag 63 nur geringgradig. In der Stenosegrad-1-Gruppe ist der Mittelwert bei 0,99 mm ($\pm 0,35$), in der Stenosegrad-2-Gruppe bei 1,11 mm ($\pm 0,16$) und in der Gruppe der Tiere mit Stenosegrad-3 bei 1,02 mm ($\pm 0,40$).

Stenosegrad	Mittelwert (mm)	Standardabweichung
1	0,99	0,35
2	1,11	0,16
3	1,02	0,4

Tabelle 23: Mittelwert und Standardabweichung der Bindegewebedicke Max (mm) innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

Beim Maximum der Bindegewebedicke am Tag 63 zeigt sich zwischen den Stenosegrad-Gruppen keine Signifikanz ($p = 0,49$).

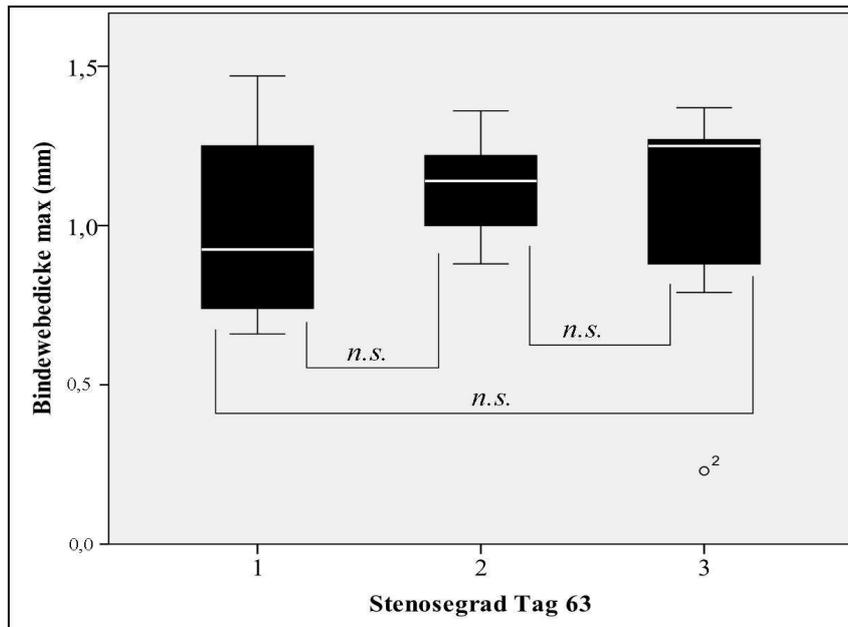


Diagramm 15: Das Boxplot stellt das Maximum der Bindegewebsdicke in mm in Abhängigkeit von Stenosegrad Tag 63. Die zentrale Linie gibt den Median der gemessenen Werte an. „^o“ gibt den Ausreißer in der Stenosegrad-3-Gruppe an. Die Box beschreibt den 25.-75. Quartil. Signifikanzen sind nicht vorhanden (n.s.).

6.1.3.5. Bindegewebeffläche (mm²) in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)

Die Messwerte der Dosis-Gruppen (0, 15, 30 Gy) in Bezug auf die Fläche des Bindegewebes unterscheiden sich kaum.

Die Fläche des Bindegewebes ist in der 0-Gy-Gruppe 6,15 mm² (\pm 2,68), in der 15-Gy-Gruppe 6,94 mm² (\pm 2,73) und in der 30-Gy-Gruppe 5,23 mm² (\pm 4,69).

Dosis (Gy)	Mittelwert (mm ²)	Standardabweichung
0	6,15	2,68
15	6,94	2,73
30	5,23	4,69

Tabelle 24: Mittelwert und Standardabweichung der Bindegewebeffläche (mm²) innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30)

Zwischen den Gruppen zeigt sich keine Signifikanz ($p = 0,36$).

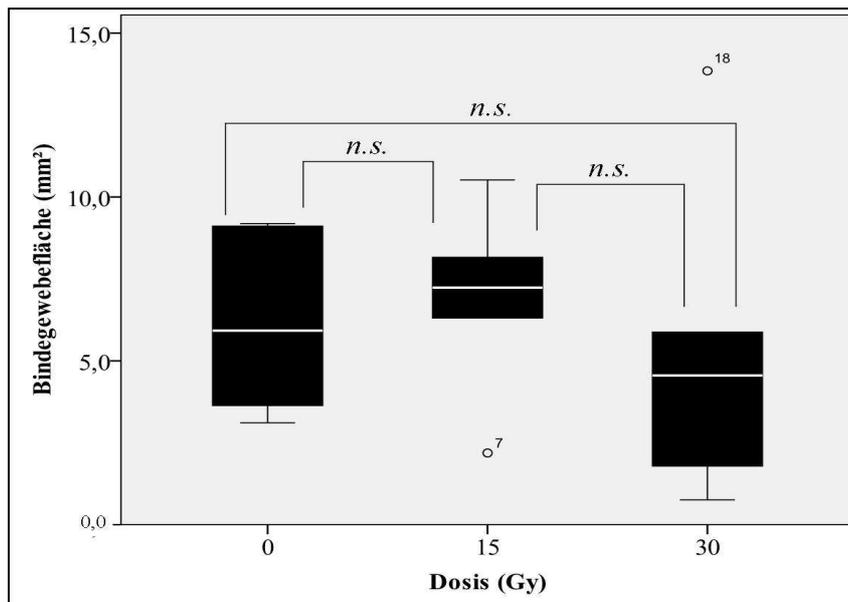


Diagramm 16: Das Boxplot stellt die Fläche des Bindegewebes in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30 Gy). Die zentrale Linie gibt den Median der gemessenen Werte an. Die Box beschreibt den 25.-75. Quartil. Der Ausreißer in der 15-Gy-Gruppe wird mit „•⁷“, der Ausreißer in der 30-Gy-Gruppe mit „•¹⁸“ beschrieben. Signifikanzen sind nicht vorhanden (n.s.).

6.1.3.6. Bindegewebeffläche (mm²) in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63)

Die Mittelwerte der Stenosegrad-Gruppen verhalten sich bezüglich der Fläche des Bindegewebes wie auch in Abhängigkeit von den Dosis-Gruppen nicht unterschiedlich.

Die Mittelwerte der Fläche des Bindegewebes in mm² sind in der Stenosegrad-1-Gruppe 6,15 mm² (\pm 2,42), in der Stenosegrad-2-Gruppe 5,11 mm² (\pm 3,44) und in der Stenosegrad-3-Gruppe 7,07 mm² (\pm 3,88).

Stenosegrad	Mittelwert (mm ²)	Standardabweichung
1	6,15	2,42
2	5,11	3,44
3	7,07	3,88

Tabelle 25: Mittelwert und Standardabweichung der Bindegewebeffläche (mm²) innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

Im Kruskal-Wallis Test besteht keine Signifikanz zwischen den 3 Gruppen ($p = 0,77$).

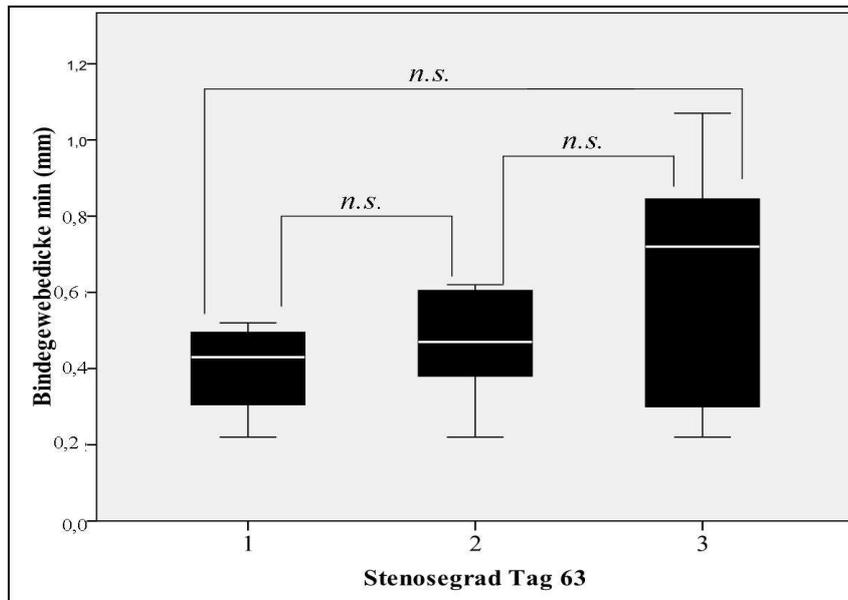


Diagramm 17: Das Boxplot stellt die Fläche des Bindegewebes in Abhängigkeit von den Stenosegraden am Tag 63 dar. Die zentrale Linie gibt den Median der gemessenen Werte an. Die Box beschreibt den 25.-75. Quartil. Signifikanzen sind nicht vorhanden (n.s.).

6.2. Histopathologische Ergebnisse

Die histopathologischen Ergebnisse der entzündlichen Veränderungen des Urothel und des Bindegewebes, sowie der α -SMA-Grad und der Fibrosegrad werden im Folgenden präsentiert.

6.2.1. Entzündung im Urothel

10 von 18 Tieren haben im Urothel keine Entzündung (52,6%).



Abbildung 53: Entzündliche Veränderungen des Urothels, 20f-Vergrößerung

4 Tiere (21,1%) haben eine geringgradige Entzündung im Urothel (Grad 1). Jeweils 2 Tiere (10,5%) haben entzündliche Veränderung Grad 2 oder Grad 3.

6.2.1.1. Entzündung im Urothel in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)

Wie in Kapitel III.7.4 beschrieben, werden bei den folgenden Parametern

Mittelwerte erhoben, um eine Tendenz innerhalb der Gruppen zu veranschaulichen. Die Entzündung des Urothels wird als eine akute eitrige Entzündung mit einer Einwanderung von neutrophilen Granulozyten bezeichnet, welche beim Kaninchen als pseudoeosinophile Granulozyten beschrieben werden.

Dosis (Gy)	Mittelwert
0	0,83
15	0,33
30	1,17

Tabelle 26: Mittelwerte der Entzündung des Urothels innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30)

Die 15-Gy-Gruppe zeigt insgesamt den niedrigsten Entzündungswert im Mittel an. In der 0-Gy-Gruppe haben 3 Tiere keine Entzündung im Epithel (50,0%). 2 Tiere (33,3%) eine Grad 1 (16,7%) Entzündung und ein Tier eine Grad 3 Entzündung. In der 15-Gy-Gruppe haben 5 Tiere eine Grad-0-Entzündung (83,3%) und 1 Tier (16,7%) hat eine Grad-2-Entzündung. In der 30-Gy-Gruppe haben 2 Tiere (33,3%) jeweils eine Grad-0-Entzündung oder eine Grad-1-Entzündung und 1 Tier (16,7%) jeweils eine Grad-2-Entzündung oder eine Grad-3-Entzündung. Der exakte Test nach Fisher ist mit $p = 0,49$ nicht signifikant.

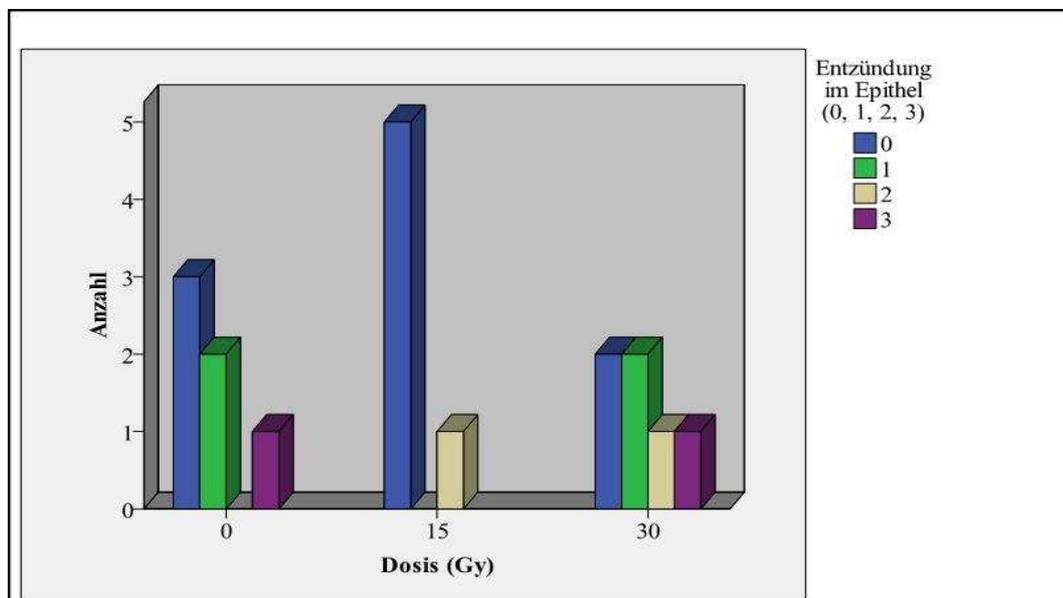


Diagramm 18: Entzündung im Epithel in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30 Gy)

6.2.1.2. Entzündung im Urothel in Abhängigkeit vom Stenosegrad Tag 63

Der exakte Test nach Fisher innerhalb der verschiedenen Kathetergruppen (0, 15, 30 Gy) in Bezug auf die Entzündung im Urothel ist mit $p = 0,16$ nicht signifikant.

Stenosegrad	Mittelwert
1	0,5
2	0,28
3	1,57

Tabelle 27: Mittelwert der Entzündung des Urothels innerhalb der Stenosegrad-Gruppen

Die Stenosegrad-2-Gruppe hat im Mittel weniger entzündliche Veränderungen am Urothel als die anderen Gruppen. In der Stenosegrad-1-Gruppe haben 2 Tiere keine Entzündung (50,0%) im Epithel (Grad 0) und 2 Tiere eine Grad-1-Entzündung (50,0%). In der Stenosegrad-2-Gruppe haben 6 Tiere eine Grad-0-Entzündung (85,7%) und 1 Tier eine Grad-2-Entzündung (14,3%). In der Stenosegrad-3-Gruppe haben jeweils 2 Tiere (28,6%) einen Entzündungsgrad von 0, 2 oder 3 und ein Tier den Entzündungsgrad 1 (14,3%).

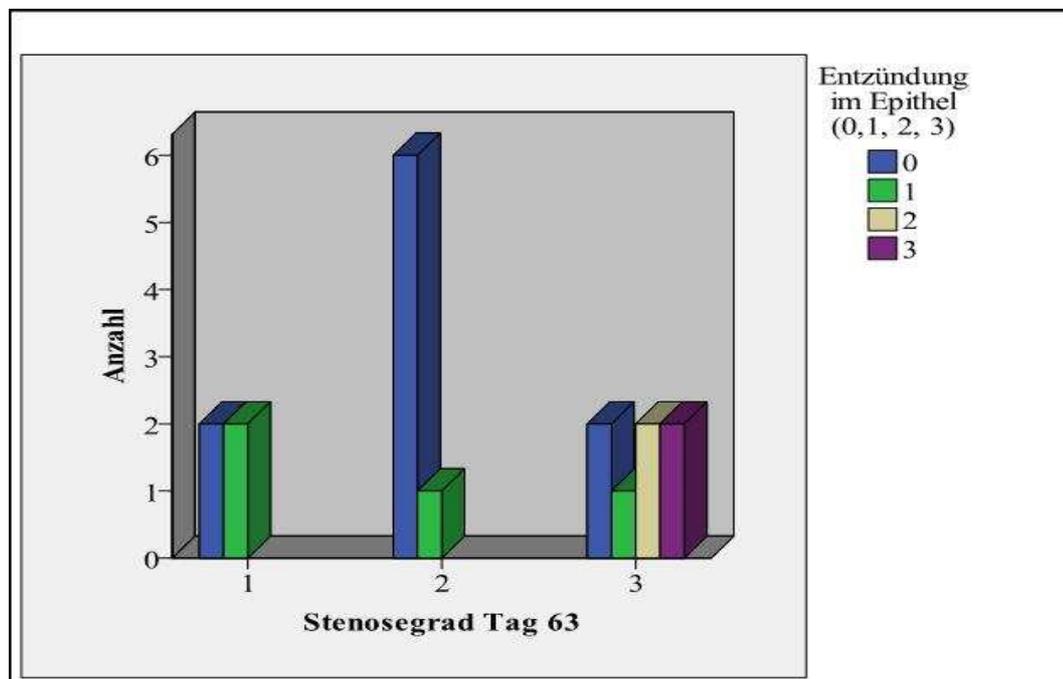


Diagramm 19: Entzündung im Epithel innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

6.2.2. Entzündung im Bindegewebe

Bei der Entzündung des Bindegewebes handelt es sich um eine lymphoplasmazelluläre Entzündung, die am Übergang zum Urothel nicht von einer akuten Entzündung abzugrenzen ist. Im Bindegewebe haben 6 von 18 Tieren eine Grad-0-Entzündung (33,3%). 10 Tiere haben eine Grad-1-Entzündung (55,6%) und 2 Tiere eine Grad-2-Entzündung (11,1%).

6.2.2.1. Entzündung im Bindegewebe in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)

Der exakte Test nach Fisher ist mit $p = 0,19$ nicht signifikant.

Dosis (Gy)	Mittelwert
0	0,5
15	0,5
30	1,67

Tabelle 28: Mittelwert der Entzündung im Bindegewebe innerhalb der Dosis-Gruppen

Es gibt keine Signifikanz innerhalb der Gruppen. Die 0-Gy-Gruppe und die 15-Gy-Gruppen zeigen insgesamt eine geringere entzündliche Veränderung der *Lamina propria* als die 30-Gy-Gruppe. Diese Gruppen (0 Gy, 15 Gy) haben im Mittel den gleichen Entzündungsgrad. In der 0-Gy-Gruppe und in der 15-Gy-Gruppe haben jeweils 3 Tiere (50,0%) eine Grad-0 oder eine Grad-1-Entzündung im Bindegewebe. In der 30-Gy-Gruppe haben 4 Tiere (66,7%) eine Grad-1-Entzündung und 2 Tiere (33,3%) eine Grad-3-Entzündung.

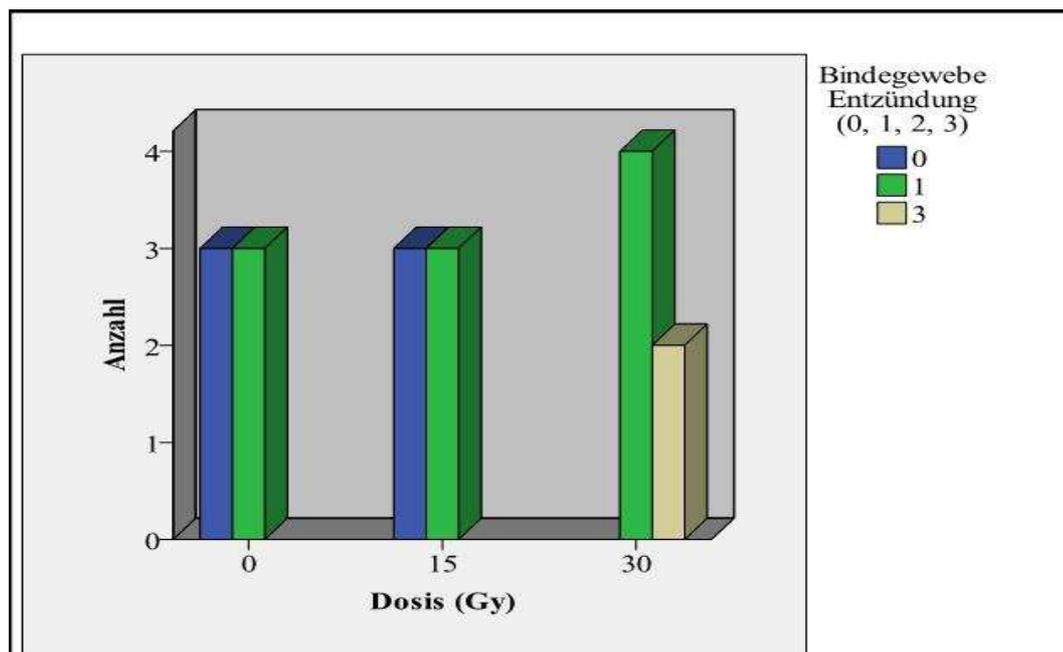


Diagramm 20: Entzündung im Bindegewebe in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30 Gy)

6.2.2.2. Entzündung im Bindegewebe in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63)

Der exakte Test nach Fisher ist mit $p = 0,52$ nicht signifikant.

Stenosegrad	Mittelwert (mm)
1	1,00
2	0,57
3	1,86

Tabelle 29: Mittelwert der Entzündung im Bindegewebe innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

Die Stenosegrad-2-Gruppe hat weniger entzündliche Veränderungen im Bereich des Bindegewebes als die anderen Gruppen. In der Stenosegrad-1-Gruppe haben jeweils 2 Tiere (50,0%) eine Grad-0 und eine Grad-1-Entzündung im Bindegewebe. In der Stenosegrad-2-Gruppe haben je 3 Tiere (42,9%) eine Grad-0-Entzündung und 4 Tiere (57,1%) eine Grad-1-Entzündung im Bindegewebe. In der Stenosegrad-3-Gruppe haben 4 Tiere (57,1%) eine Grad-1-Entzündung und 3 Tiere (42,9%) eine Grad-3-Entzündung.

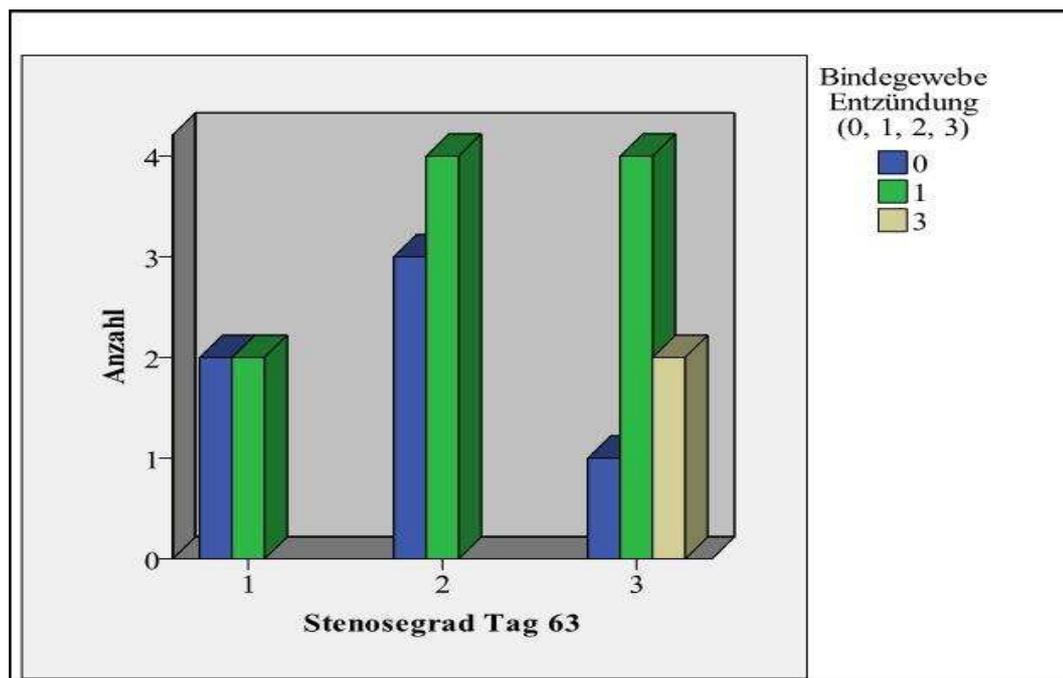


Diagramm 21: Entzündung im Bindegewebe innerhalb der Stenosegrade (1, 2, 3)

6.2.3. Histopathologische Veränderungen am Urothel

Das Urothel wird histologisch auf folgende Veränderungen untersucht: Hyperplasie, Metaplasie, subepitheliales Ödem, Regeneration, Ulzeration, Erosion.

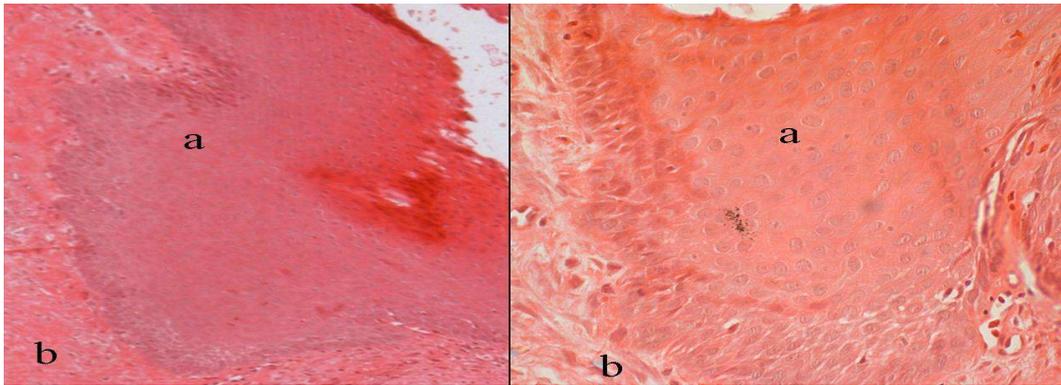


Abbildung 54: Plattenepithelmetaplasie (a= Urothel, b= subepithelialer Bereich), 20f-Vergrößerung

Eine Metaplasie (Abbildung 54) ist eine Umwandlung eines ausdifferenzierten Gewebes in ein anderes ausdifferenziertes Gewebe. Diese ist bei einem Tier (5,55%) der 15-Gy-Gruppe vorhanden. Dieses Tier weist am Tag 63 einen Stenosegrad 3 auf. Eine Hyperplasie des Urothels (vermehrte Zelllagen bei erhaltener Schichtung) tritt bei 6 Tieren (33,3%) auf. 5 dieser 6 Tiere (83,33%) haben einen 30-Gy-Katheter. Ein Tier (16,66%) mit einem hyperplastischen Urothel hat einen 0-Gy-Katheter (Abbildung 55).

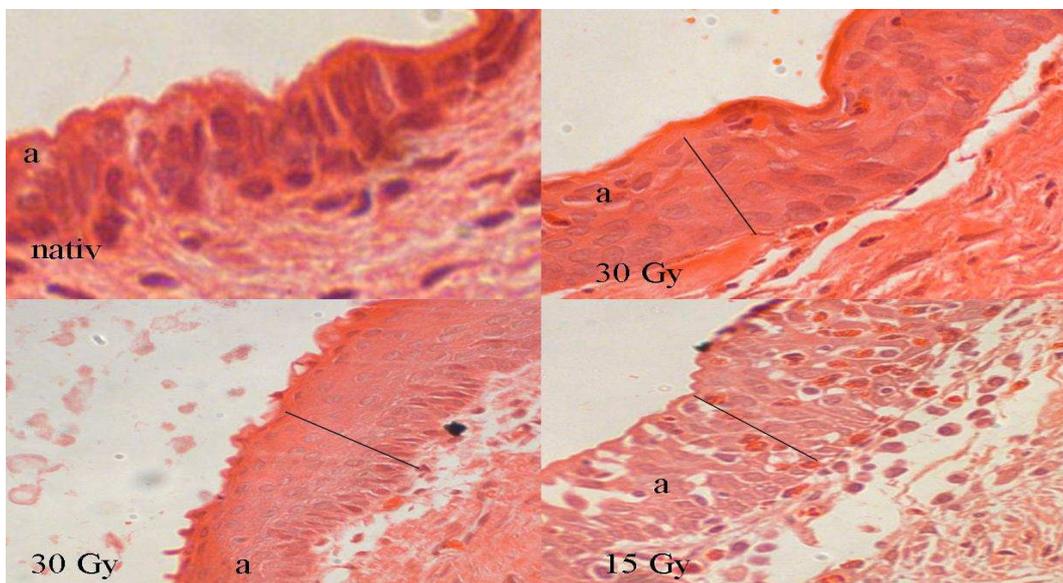


Abbildung 55: Hyperplastische Epithelveränderungen des Urothels (a = Urothel)

8 Tiere (44,44%) haben ein subepitheliales Ödem im histologischen Präparat. Von diesen 8 Tieren haben 7 Tiere (87,5%) einen Stenosegrad-3 und ein Tier (12,5%) einen Stenosegrad-2. Von diesen 8 Tieren haben jeweils 2 Tiere (25,0%) einen 0-Gy-Katheter und einen 15-Gy-Katheter und 4 Tiere (50,0%) einen 30-Gy-

Katheter.

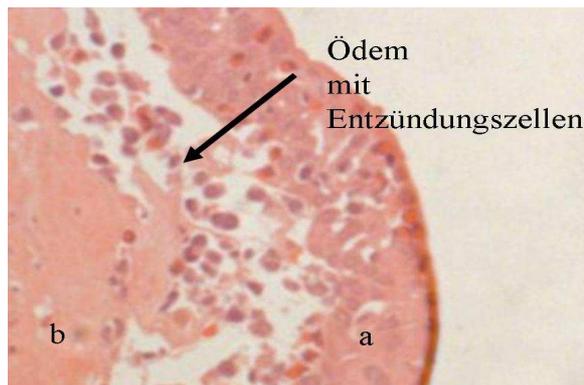


Abbildung 56: Subepitheliales Ödem (a: Urothel; b: Lamina propria)

Erosionen (oberflächliche Defekte) weisen alle 18 Tiere (100%) an einer oder mehreren Stellen des Urothels auf. Eine Ulzeration (tiefergreifende Defekte) (rechte Abbildung 57) des Gewebes entsteht bei 8 Tieren (44,44%). 3 Tiere (37,5%) davon haben einen 30-Gy-Katheter, 3 Tiere (37,5%) einen 0-Gy-Katheter und 2 Tiere (25,0%) einen 15-Gy-Katheter.

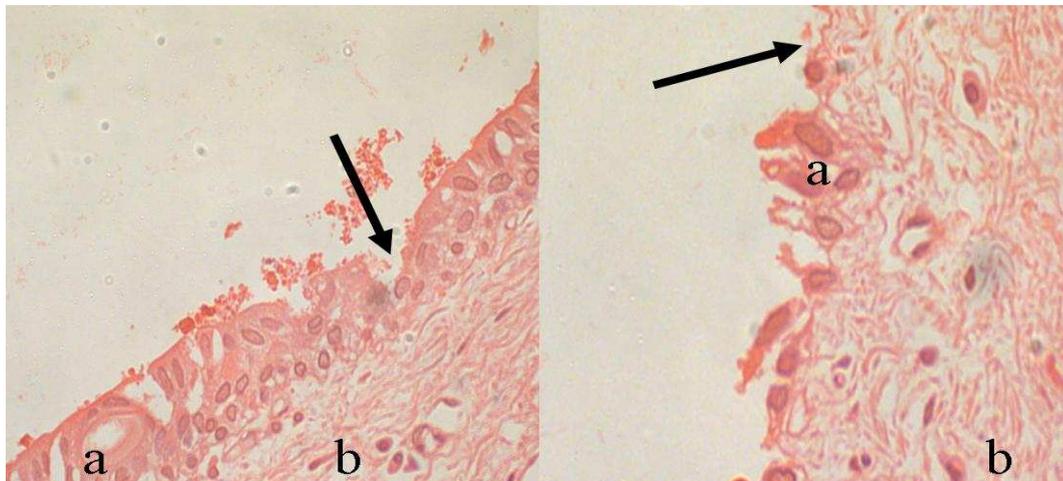


Abbildung 57: rechte Abb.: Erosion des Urothels, linke Abb.: Ulzeration des Urothels (a = Urothel, b = subepithelialer Bereich)

6.2.4. α -SMA-Färbung

6 von 18 Tieren haben bei der α -SMA-Färbung einen Grad 0 (33,3%). 6 weitere zeigen eine α -SMA-Färbung Grad-1 (33,3%). 4 Tiere haben einen α -SMA mit Grad-3 (22,2%). 2 Tiere (11,1%) haben eine Grad-2-Färbung.

6.2.4.1. α -SMA-Färbung in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)

Für die 3 Gruppen (0, 15, 30 Gy) untereinander wird der exakte Test nach Fisher

angewendet. Dieser ist signifikant ($p = 0,019$).

Dosis (Gy)	Mittelwert
0	0,14
15	1,28
30	1,71

Tabelle 30: Mittelwert des α -SMA-Grades innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30)

In der 0-Gy-Gruppe zeigt sich weniger α -SMA im Gewebe als in den Gruppen mit einem radioaktiven Katheter. Zwischen der 0-Gy-Gruppe und der 30-Gy-Gruppe besteht eine Signifikanz von $p = 0,015$. Zwischen den anderen Gruppen besteht keine Signifikanz. In der 0-Gy-Gruppe hat 1 Tier (16,7%) bezogen auf die α -SMA-Färbung eine Grad-1-Färbung und bei 5 Tiere (83,3%) konnte kein α -SMA angefärbt werden (Grad 0). In der 15-Gy-Gruppe zeigt ein 1 Tier keine Myofibroblasten (Grad-0-Färbung) an und ein Tier hingegen eine hochgradige Menge an α -SMA (Grad-3-Färbung) (16,7%). Jeweils 2 Tiere (22,2%) haben bei der α -SMA-Färbung einen Score von 1 und 2. In der 30-Gy-Gruppe haben 3 Tiere (50,0%) eine hochgradige Menge an α -SMA (Grad 3) und 3 Tiere (50,0%) eine geringgradige Menge an α -SMA (Grad 1).

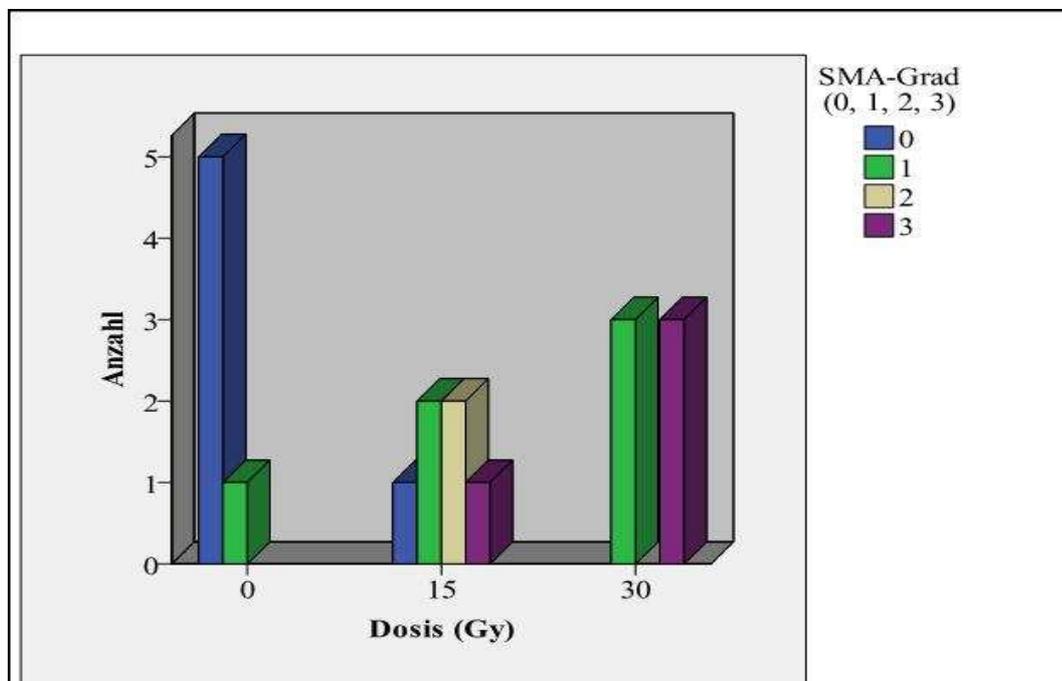


Diagramm 22: α -SMA-Färbung der verschiedenen Dosis-Gruppen (0, 15, 30)

6.2.4.2. α -SMA-Färbung in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63)

Der exakte Test nach Fisher ist hier signifikant ($p = 0,03$). Zwischen der

Stenosegrad-2-Gruppe und der Stenosegrad-3-Gruppe gibt es eine Signifikanz von $p = 0,038$. Zwischen den anderen Gruppen gibt es keine Signifikanz.

Stenosegrad	Mittelwert
1	0,25
2	1,14
3	1,86

Tabelle 31: Mittelwert des α -SMA-Färbung innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

In der Stenosegrad-1-Gruppe wird bei 3 Tieren (75,0%) kein α -SMA angefärbt (Grad 0) und 1 Tier (25,0%) hat einen α -SMA-Grad von 1. In der Stenosegrad-2-Gruppe hat ein 1 Tier (14,3%) einen α -SMA-Grad von 0. 4 Tiere (57,1%) haben den α -SMA-Grad-1 und 2 Tiere (28,6%) haben einen α -SMA-Grad-2. In der Stenosegrad-3-Gruppe haben 2 Tiere (28,6%) kein α -SMA (Grad 0), 1 Tier (14,3 %) eine geringe Menge an α -SMA (Grad 1) und 4 Tiere (57,1%) haben eine große Menge an α -SMA (Grad 3) im Bindegewebe der behandelten Urethra.

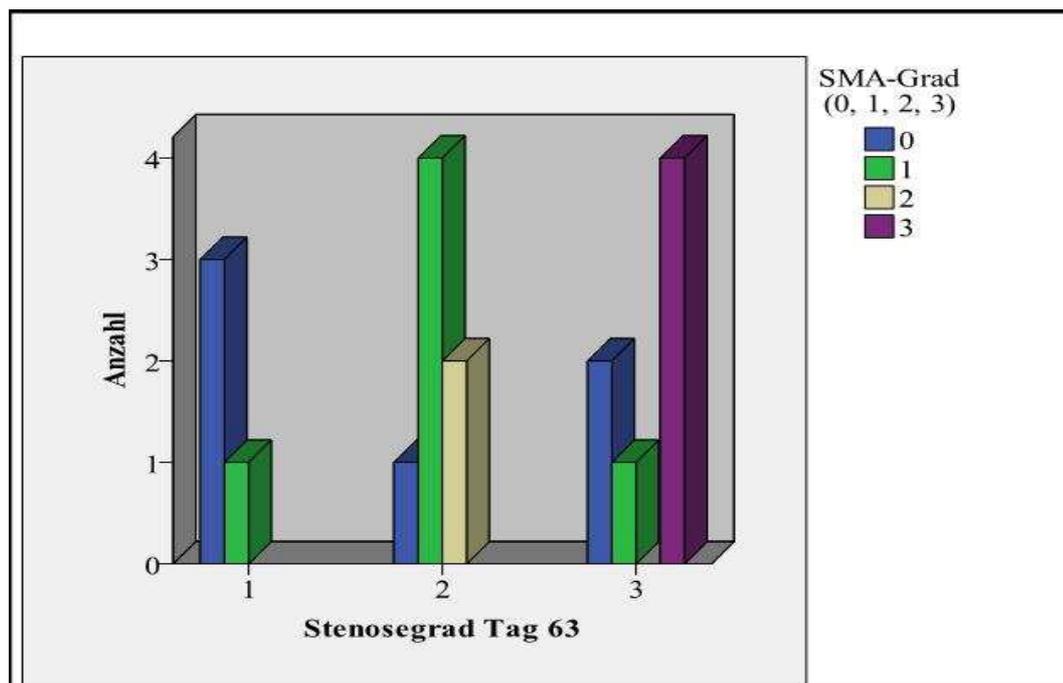


Diagramm 23: α -SMA-Färbung innerhalb der Stenosegrad-Gruppen

6.2.5. Fibrosegrad

5 von 18 Tieren haben einen Fibrosegrad 1 (22,8%). 5 weitere Tiere haben einen Fibrosegrad 3 (22,8%). 8 Tiere haben einen mittleren Fibrosegrad 2 (44,4%).

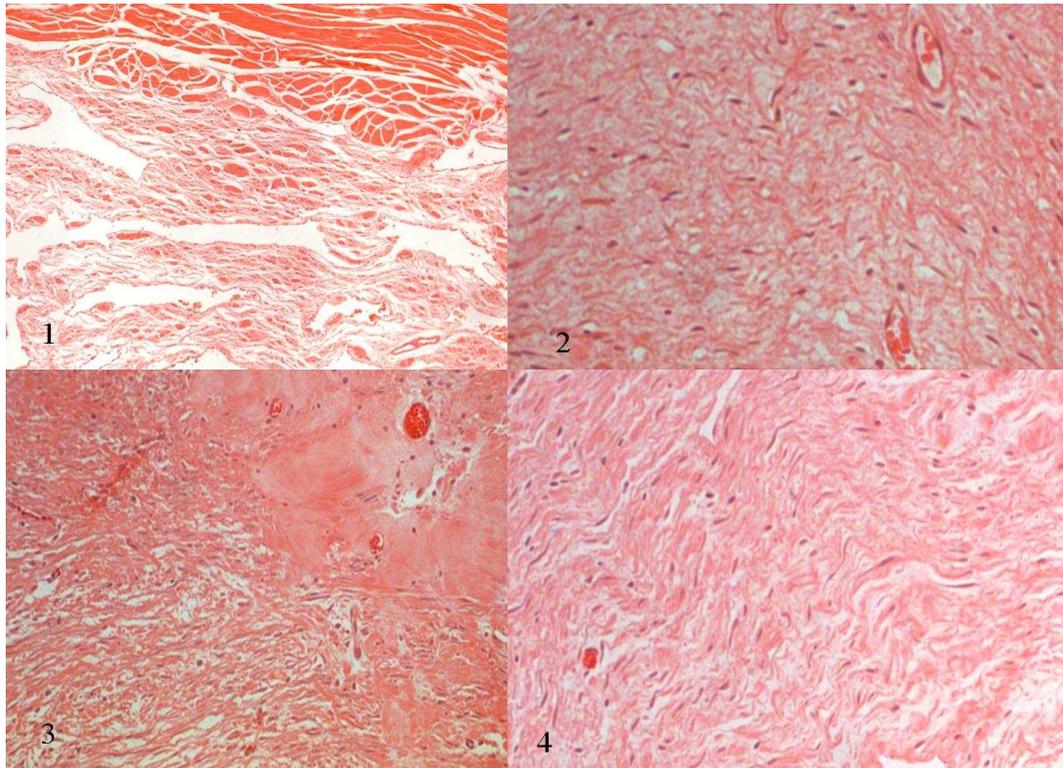


Abbildung 58: Fibrotische Veränderungen am Gewebe (Bild 1: nativ, Bild 2: kollagene Fasern diffus, Bild 3: zellarmes, hyalinreiches Gebiet, Bild 4: longitudinal angeordnetes Kollagen)

6.2.5.1. Fibrosegrad in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)

Der exakte Test nach Fisher innerhalb der 3 Dosisgruppen (0, 15, 30 Gy) ist nicht signifikant ($p = 0,75$).

Dosis (Gy)	Mittelwert
0	1,57
15	1,57
30	2,0

Tabelle 32: Mittelwert des Fibrosegrades innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30)

Die 0-Gy-Gruppe und die 15-Gy-Gruppe haben im Mittel den gleichen Fibrosegrad. Der Fibrosegrad der 30-Gy-Gruppe liegt im Mittel höher.

In der 0 und der 15-Gy-Gruppe haben 2 Tiere (33,3%) einen Fibrose-Grad-2. 3 Tiere (50,0%) haben einen Fibrose-Grad-2 und ein Tier (16,7%) einen Fibrose-Grad-3. In der 30-Gy-Gruppe hat ein Tier (16,7%) eine geringgradige Fibrose (Grad 1), 2 Tiere (33,3%) eine mittelgradige (Grad 2) und 3 Tiere (50,0%) eine hochgradige Fibrose (Grad 3).

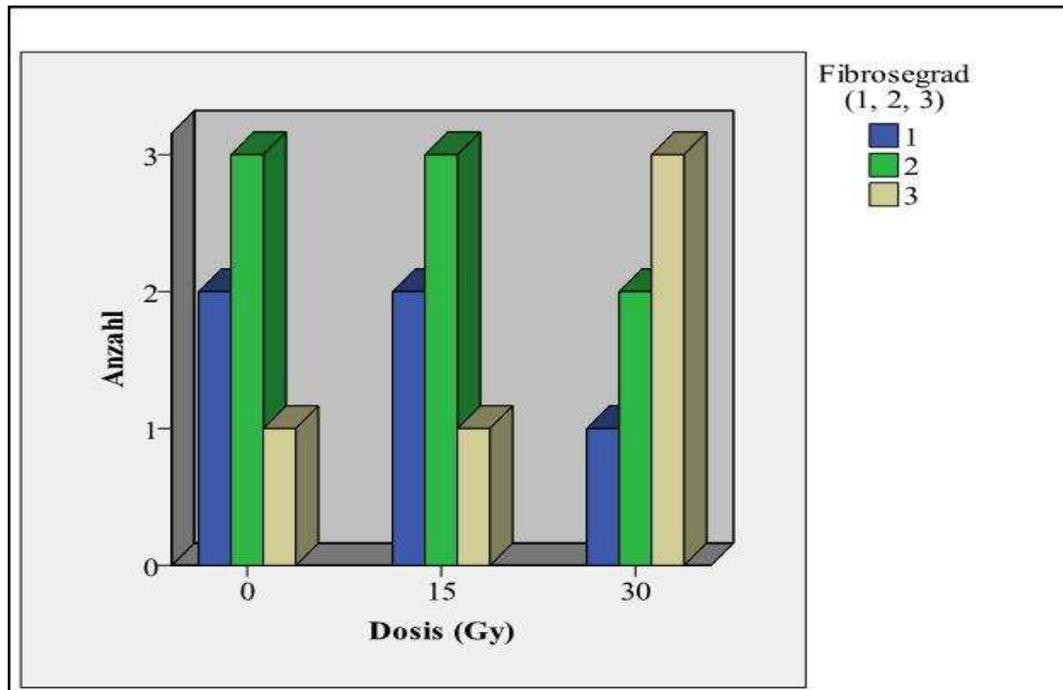


Diagramm 24: Fibrosegrad in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30 Gy)

6.2.5.2. Fibrosegrad in Abhängigkeit vom Stenosegrad (Tag 63)

Im exakten Test nach Fisher gibt es keine Signifikanz zwischen den drei Dosis-Gruppen ($p = 0,16$).

Stenosegrad	Mittelwert
1	1,50
2	1,71
3	2,57

Tabelle 33: Mittelwert des Fibrosegrades innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

In der Stenosegrad-1-Gruppe zeigen sich die geringsten fibrotischen Veränderungen. Der Mittelwert des Fibrosegrades steigt mit der Schwere des Stenosegrades. In der Stenosegrad-1-Gruppe haben jeweils 2 Tiere (50,0%) einen Fibrosegrad von 1 oder von 2. In der Stenosegrad-2-Gruppe haben jeweils 3 Tiere (42,9%) einen Fibrosegrad-1 oder einen Fibrosegrad-2 und 1 Tier (14,3%) ein hochgradige Fibrose (Fibrosegrad-3). In der Stenosegrad-3-Gruppe haben jeweils 3 Tiere (42,9%) einen Fibrosegrad von 2 und 4 Tiere (57,1%) einen Fibrosegrad von 3.

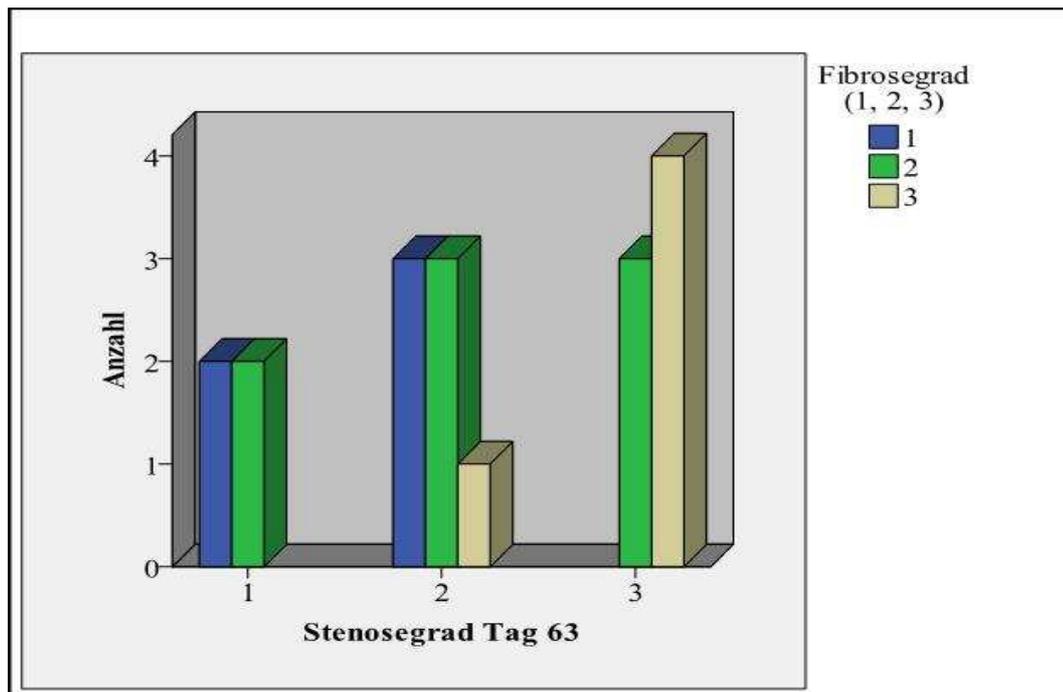


Diagramm 25: Fibrosegrad innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

6.2.6. Strahlenschaden

Bei 9 von 18 Tieren ist ein Strahlenschaden an den mittleren und kleinen Gefäßen erkennbar (50%). Kein Tier mit einem 0-Gy-Katheter hat einen Strahlenschaden. 5 Tiere (55,55%) der 15-Gy-Gruppe und 4 Tiere (44,44%) der 30-Gy-Gruppe haben einen Strahlenschaden.

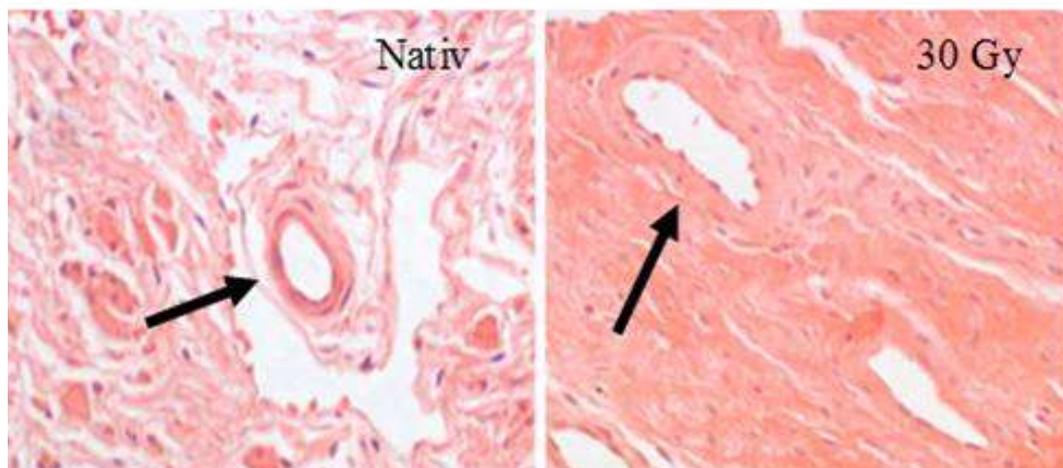


Abbildung 59. Strahlenschaden (Pfeil links und rechts: Verdickung der Tunica intima der mittleren Gefäße)

6.3. Korrelation der Ergebnisse

6.3.1. Korrelation zwischen dem Stenosegrad (Tag 63) und den Dosis-Gruppen (Gy)

Zwischen dem Stenosegrad am Tag 63 und den verschiedenen Kathetern (Gy) besteht eine Korrelation. 2-seitig getestet besteht ein Signifikanzniveau von $p = 0,008$. Diese Korrelation ist auf dem Niveau von $p = 0,01$ signifikant. Der Korrelationskoeffizient ist $r = 0,603$.

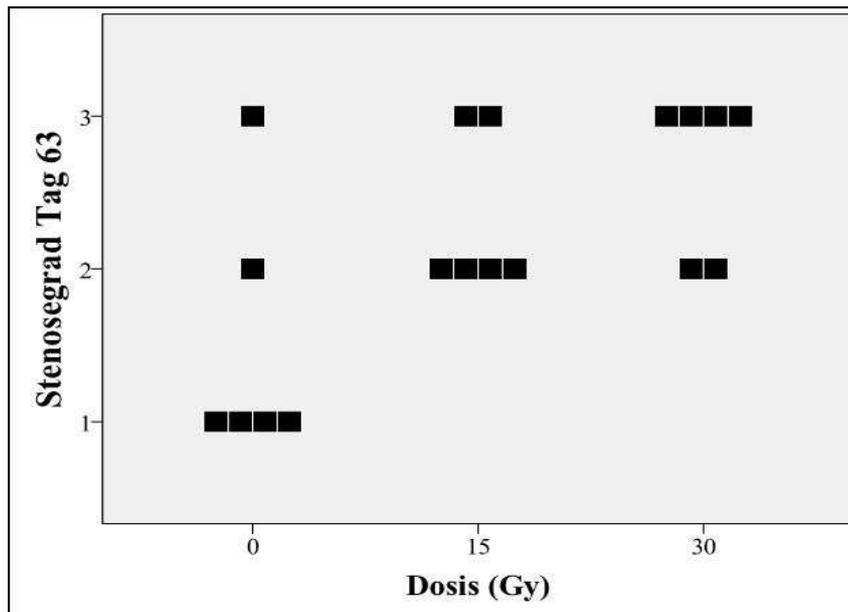


Diagramm 26: Korrelation zwischen dem Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3) und den Dosis-Gruppen (0, 15, 30)

Im Streudiagramm besteht eine positive Korrelation zwischen den beiden Merkmalen.

6.3.2. Korrelation zwischen dem Stenosegrad (Tag 63) und der Entzündung im Urothel

Zwischen dem Stenosegrad am Tag 63 und der Entzündung im Urothel besteht im Spearman-Test keine Korrelation ($p = 0,83$).

6.3.3. Korrelation zwischen dem Stenosegrad Tag (Tag 63) und der Entzündung im Bindegewebe

Zwischen dem Stenosegrad am Tag 63 und der Entzündung im Bindegewebe besteht im Spearman-Test keine Korrelation ($p = 0,81$).

6.3.4. Korrelation zwischen dem Stenosegrad (Tag 63) und dem α -SMA

Grad

Zwischen dem Stenosegrad am Tag 63 und dem α -SMA-Grad besteht im Spearman-Test eine Korrelation ($p = 0,041$). Der Korrelationskoeffizient ist $r = 0,487$. Auf einem Niveau von $p = 0,05$ ist diese Korrelation signifikant.

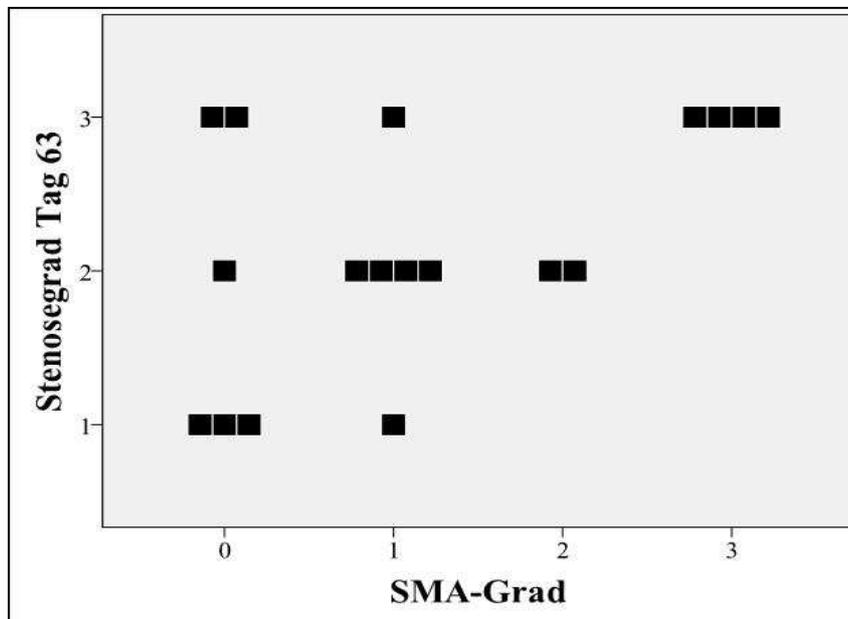


Diagramm 27: Korrelation zwischen dem α -SMA-Grad und den Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

Zwischen den Merkmalen besteht eine positive Korrelation.

6.3.5. Korrelation zwischen dem Stenosegrad (Tag 63) und dem Fibrosegrad

Zwischen dem Stenosegrad am Tag 63 und dem Fibrosegrad besteht im Spearman-Test eine Korrelation ($p = 0,009$). Das zweiseitige Signifikanzniveau ist hier mit $p = 0,01$ angegeben. Der Korrelationskoeffizient ist $r = 0,599$. Die Korrelation zwischen dem Fibrosegrad und dem Stenosegrad ist positiv.

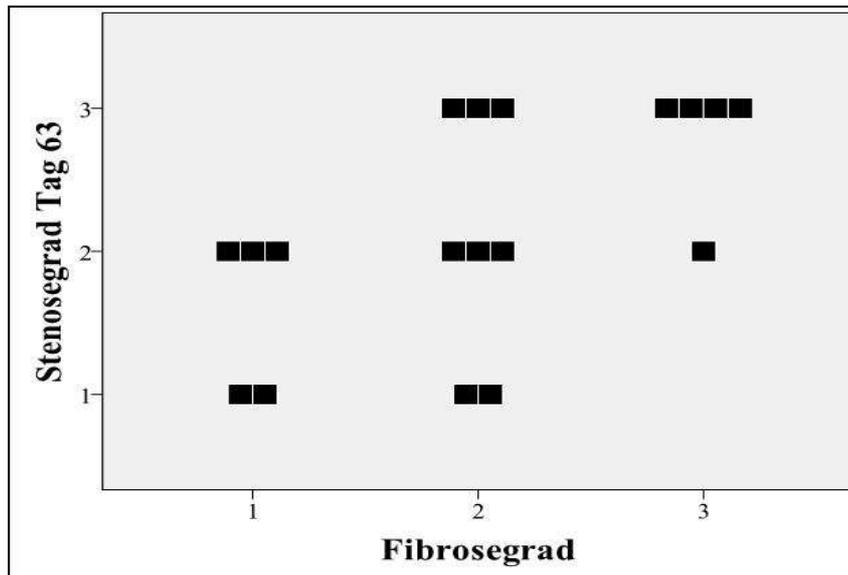


Diagramm 28: Korrelation zwischen dem Fibrosegrad und den Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

6.3.6. Korrelation zwischen dem Stenosegrad (Tag 63) und dem Umfang des Urothels

Zwischen dem Stenosegrad Tag 63 und dem Urothelumfang (mm) besteht im Spearman-Test eine Korrelation ($p < 0,001$).

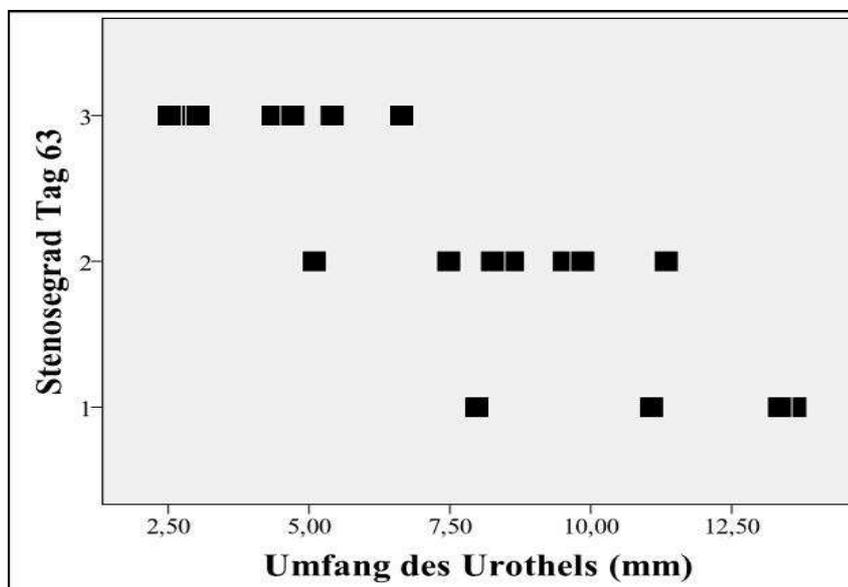


Diagramm 29: Korrelation zwischen dem Umfang des Urothels und den Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)

Das zweiseitige Signifikanzniveau ist hier mit $p = 0,01$ angegeben. Der Korrelationskoeffizient ist $r = -0,831$. Zwischen dem Umfang des Urothels und dem Stenosegrad am Tag 63 besteht eine negative Korrelation.

6.3.7. Korrelation zwischen den Dosis-Gruppen (Gy) und dem Umfang des Urothels

Zwischen den Dosis-Gruppen und Umfang des Lumens (mm) besteht im Spearman-Test eine Korrelation ($p = 0,021$). Das zweiseitige Signifikanzniveau ist hier mit $p = 0,05$ angegeben ($r = - 0,538$).

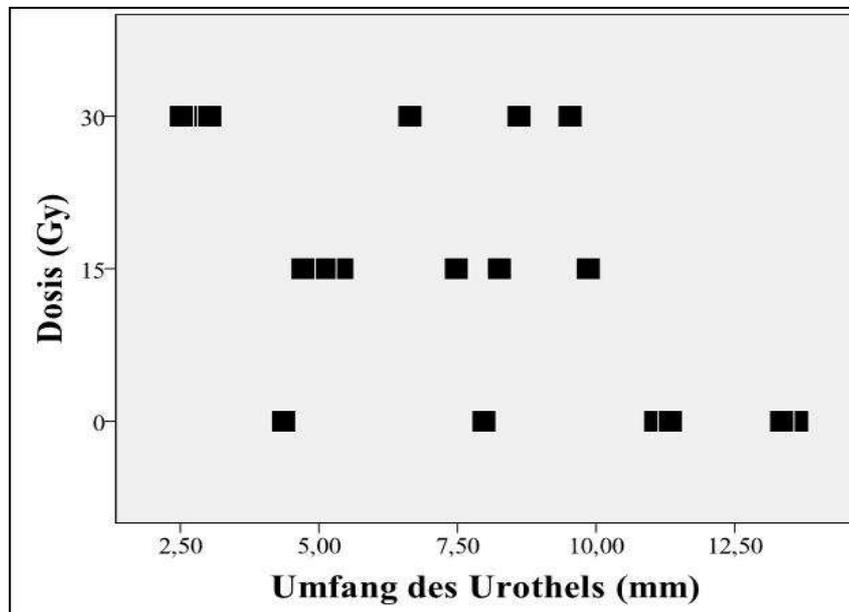


Diagramm 30: Korrelation zwischen dem Urothelumfang und den Dosis-Gruppen (0, 15, 30)

Zwischen den Merkmalen besteht, wie auch wie zwischen dem Umfang des Urothels innerhalb der verschiedenen Stenosegrade eine negative Korrelation.

6.3.8. Korrelation zwischen den Dosis-Gruppen (Gy) und der Entzündung im Urothel

Zwischen den verschiedenen Dosis-Gruppen und der entzündlichen Veränderung am Urothel besteht im Spearman-Test keine Korrelation ($p = 0,56$).

6.3.9. Korrelation zwischen den Dosis-Gruppen (Gy) und der Entzündung im Bindegewebe

Zwischen den verschiedenen Kathetern und der entzündlichen Veränderung am Bindegewebe besteht im Spearman-Test eine Korrelation ($p = 0,024$). Die Korrelation ist auf dem Niveau von $p = 0,05$ signifikant ($r = 0,530$). Es besteht eine positive Korrelation.

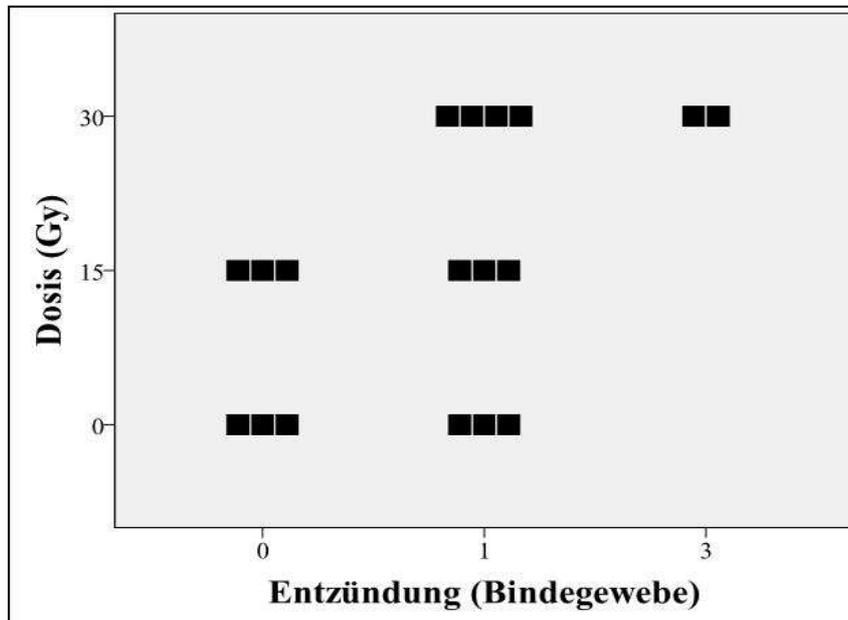


Diagramm 31: Korrelation der Entzündung im Bindegewebe und den Dosis-Gruppen (0, 15, 30)

6.3.10. Korrelation zwischen den Dosis-Gruppen (Gy) und dem α -SMA-Grad

Zwischen den verschiedenen Dosis-Gruppen (0, 15, 30) und dem α -SMA-Grad (0, 1, 2, 3) besteht eine positive Korrelation mit $p = 0,001$.

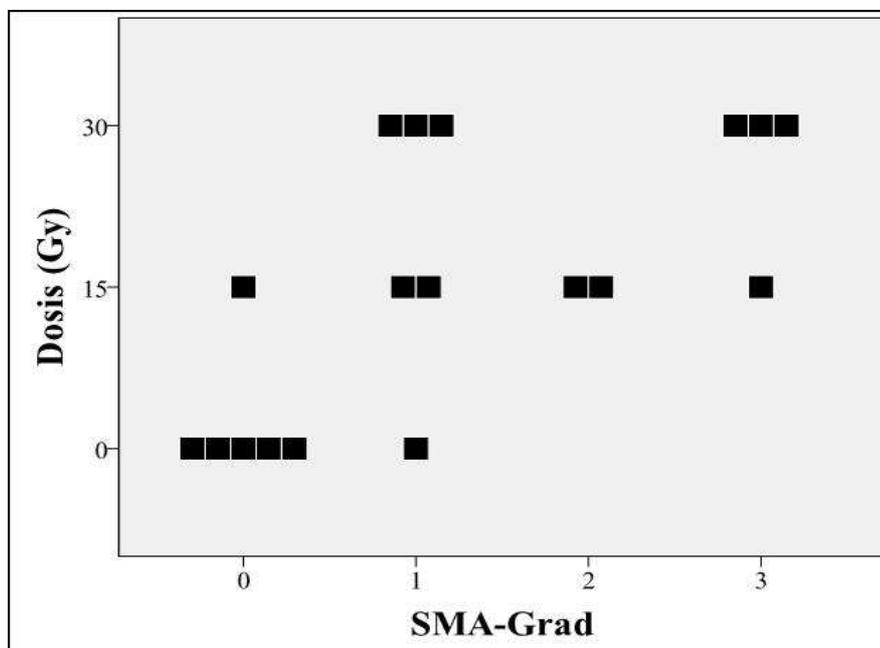


Diagramm 32: Korrelation der α -SMA-Färbung und den Dosis-Gruppen (0, 15, 30)

Das zweiseitige Signifikanzniveau ist hier mit $p = 0,01$ angegeben (Korrelationskoeffizient $r = 0,699$).

6.3.11. Korrelation zwischen den Dosis-Gruppen (Gy) und dem Fibrosegrad

Zwischen den verschiedenen Kathetern und dem Fibrosegrad besteht im Spearman-Test keine Korrelation ($p = 0,271$).

6.3.12. Korrelation zwischen der Bindegewebebläche und den Dosis-Gruppen (Gy)

Es besteht keine Korrelation zwischen der Fläche des Bindegewebes innerhalb der verschiedenen Dosis-Gruppen ($p = 0,403$).

6.3.13. Korrelation zwischen der Bindegewebebläche und dem Stenosegrad (Tag 63)

Es besteht ebenfalls keine Korrelation der Bindegewebebläche mit den verschiedenen Stenosegraden am Tag 63 ($p = 0,72$).

7. Vorläufige Ergebnisse der „De novo“- Gruppe

Die vorläufigen Ergebnisse der „De novo Gruppe“ sehen wie folgt aus. Bis zum Tag 35 (Tag der Euthanasie) haben sich bei 10 von 18 Tieren (55,5%) eine Grad 3 Stenose ausgebildet. 5 Tiere haben eine Grad 2 Stenose (27,7%). 3 Tiere (16,6%) haben eine Grad 1 Stenose.

Nach den Dosisgruppen (0, 15, 30 Gy) entblindet wie in Tabelle 34 zu sehen ist haben in der 0-Gy-Gruppe jeweils 2 Tiere eine Grad-1, Grad-2 und Grad-3-Stenose. In der 15-Gy-Gruppe hat ein Tier eine Grad-1-Stenose, 2 Tiere eine Grad-2-Stenose und 3 Tiere eine Grad-3-Stenose.

Gray	Stenosegrad 1 (n)	Stenosegrad 2 Tag (n)	Stenosegrad 3 (n)
0	2	2	2
15	1	2	3
30	0	1	5

Tabelle 34: Stenosegradentwicklung der „De novo“ Gruppe

In der 30-Gy-Gruppe hat kein Tier eine Grad-1-Stenose. 1 Tier hat eine Grad-2-Stenose und die anderen 5 Tiere in dieser Gruppe haben eine hochgradige Stenose (Grad 3).

Die Tiere der 0-Gy-Gruppe haben sich, wenn man die Stenosegrade am Tag 35 betrachtet, am Besten entwickelt. Die Ergebnisse der anderen Auswertungen sind tendenziell den Ergebnissen der „Urethrotomia interna Gruppe“ ähnlich. Die Entzündung im Urothel ist bei der 15-Gy-Gruppe nur geringgradig mehr als bei der 0-Gy-Gruppe. Bei der α -SMA-Färbung hat die 15-Gy-Gruppe am wenigsten angefärbte Myofibroblasten. Strahlenschäden sind auch hier bei den bestrahlten Präparaten sichtbar. Dies sind vorläufige Ergebnisse, eine statistische Auswertung der Daten muss folgen.

8. Ergebnisse der Radiotherapie von Normalgewebe

Um die Strahlenwirkung der radioaktiven Dosen und die Strahlentoleranz der Urethra zu untersuchen, werden 3 Tiere ohne vorausgehende Strikturinduktion mit radioaktiven Kathetern im Sinne einer LDR-Brachytherapie behandelt (Einlagezeit: 1 Woche). Sowohl bei einem mit 15 Gy Gesamtdosis bestrahlten Tier, als auch bei zwei Tieren, welche mit einer Gesamtdosis von 60 Gy bestrahlt werden, zeigen sich Veränderungen an der Struktur des Bindegewebes.

Bei der 60-Gy-Gruppe (n = 2) dehnt sich der fibrotische Bereich über das gesamte Bindegewebe aus (rechte Abbildung 60).

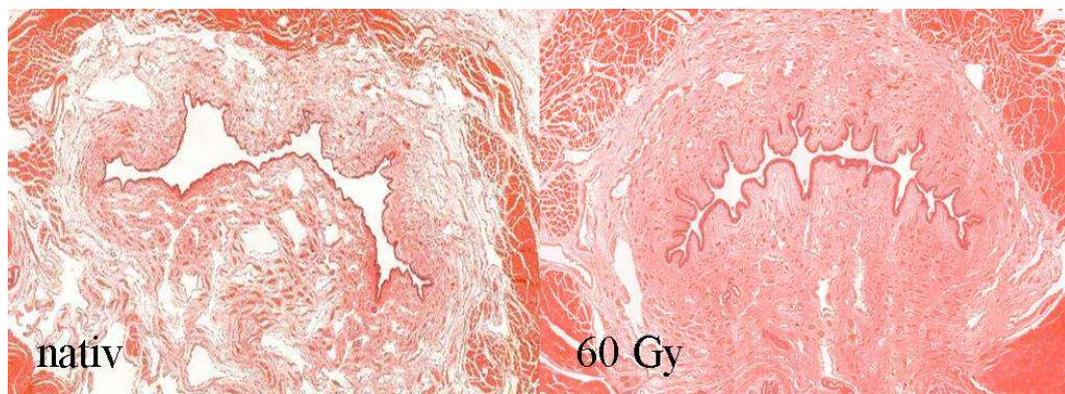


Abbildung 60: linke Abbildung: unbehandeltes Gewebe, rechte Abbildung: bestrahltes Tier (60 Gy)

Die lockere Struktur des Bindegewebes, wie sie bei einem nativen, unbestrahlten Präparat zu sehen ist (linke Abbildung 60), ist bei den bestrahlten Tieren mit der 60-Gy-Dosis aufgehoben. Strahlenschäden an den mittleren und kleinen Gefäßen sind bei den mit 60 Gy behandelten Tieren sichtbar.

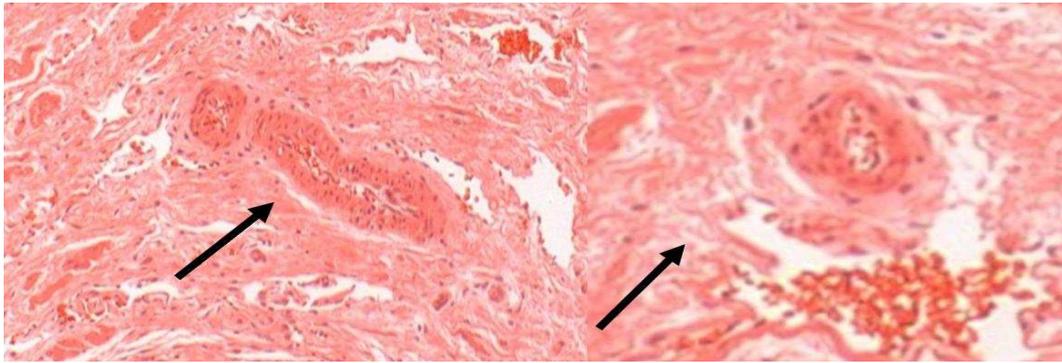


Abbildung 61: Strahlenschäden an den mittleren und kleinen Gefäßen (60 Gy)

Bei einem Tier, das mit einem 15-Gy-Implantat behandelt wird, zeigen sich geringgradige strahleninduzierte Veränderungen. Die fibrotische Reaktion ist primär auf den suburethralen Bereich konzentriert. Strahleninduzierte Schäden an den Gefäßen sind auch hier sichtbar.

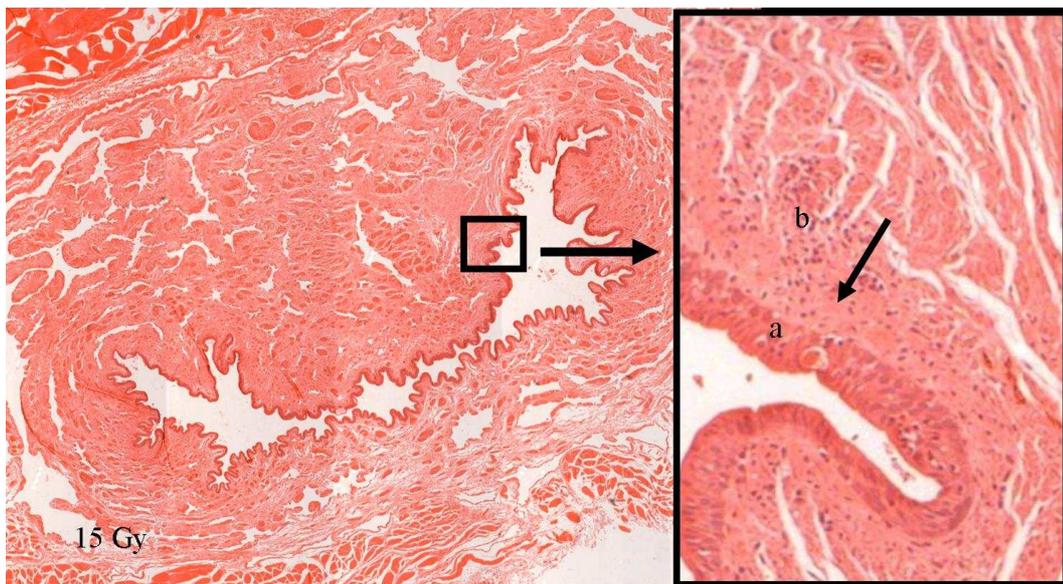


Abbildung 62: Tier ohne Strikturinduktion mit einem 15-Gy-Implantat (a = Urothel, b = subepithelialer Bereich mit Kollagenzubildung)

Diese Ergebnisse werden durch die Untersuchungen des Teilprojekts „Gallengang“ innerhalb des „BetaMod-Projekts“ bestätigt. Am Gallengang werden nicht verletzte, aber bestrahlte Bereiche ausgewertet. Bei 15 Gy und 30 Gy konnten Strahlenschäden nachgewiesen werden (Otto, 2011).

V. DISKUSSION

1. Diskussion der statistischen Auswertung

Aufgrund der geringen Fallzahl der Tiere, die in den Dosis-Gruppen (0, 15, 30 Gy) mit $n = 6$ und in den Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3) mit zweimal $n = 7$ und einmal $n = 4$ sind die Ergebnisse nicht immer statistisch signifikant. Es lässt sich lediglich eine Tendenz ermitteln. Daher werden, wie bereits angesprochen, auch bei ordinalskalierten Parametern Mittelwerte gebildet, um eine Verteilung der Merkmale innerhalb der Gruppen zu verdeutlichen.

Die Korrelation der Daten in Abhängigkeit von der Dosis spiegelt keinen linearen Zusammenhang wieder. Das heißt, dass mit der Verdopplung der Dosis sich der Effekt der Bestrahlung nicht verdoppelt. Die Korrelation der Daten lässt keinen Rückschluss auf ein Dosis-Wirkungsprinzip bei anderen Dosen zu. Hiermit kann nur festgelegt werden, ob die unterschiedlichen Dosen der Katheter sich entweder im toxischen oder therapeutisch wirksamen Bereich befinden.

2. Diskussion der Versuchsdurchführung

2.1. Diskussion des Tiermodells

Für dieses Studiendesign wird das Kaninchen als Tiermodell gewählt. Auch andere Arbeitsgruppen haben den New Zealand White Rabbit als Versuchstier für die Induktion einer Harnröhrenstriktur eingesetzt (Andersen et al., 2003b, Meria et al., 1999).

Das Handling der Kaninchen als Versuchstiere ist sehr einfach. Die Applikation von Medikamenten und die tägliche klinische Untersuchung verlaufen unproblematisch. Die Einzelhaltung der männlichen Kaninchen ermöglicht eine individuelle Beobachtung des Allgemeinzustands. Die männlichen Tiere werden während des Versuchs nicht in direkten Kontakt mit weiblichen Tieren gebracht, Die weiblichen Tiere befinden sich in Sichtweite, aber es besteht kein direkter Kontakt durch eine Platzierung der Tiere in aneinander angrenzenden Käfigen. Somit wird eine zusätzliche Stresssituation für die Tiere vermieden. Anatomisch spricht für dieses Modell die Größe der Kaninchenurethra. Sie ist geeignet für die Anwendung der Instrumente aus der humanen Kinderurologie.

Histologisch ist die Urethra des männlichen Kaninchens dem Menschen sehr ähnlich. Das Urothel ist beim Kaninchen allerdings dünner und der *Corpus spongiosum* ist gut durchblutet (Andersen et al., 2003b, Meria et al., 1999).

Im Unterschied zum Menschen, bei dem eine Urethrotomia interna unter Lokalanästhesie oder mit einer (Larynx)-Maskenbeatmung durchgeführt werden kann, ist dies beim Kaninchen nicht möglich (Rossaint, 2008). Hier muss sie unter Vollnarkose durchgeführt werden. Während der Narkose wird den Kaninchen ein Muskelrelaxans (Atracurium) zur relaxierten Darstellung der Harnröhre verabreicht (Wirkdauer des Atracurium circa 45 min). Diese Medikation erfordert eine standardmäßig kontrollierte Beatmung der Tiere während der Narkose (Erhardt, 2004). Auch die Überwachung der Narkosetiefe ist beim Kaninchen aufgrund der hohen Reflexaktivität diffiziler. Beim Kaninchen sind auch noch innerhalb des Toleranzstadiums die Reflexe geringgradig auslösbar. Ein vollständiger Ausfall der Reflexe bedeutet daher ein zu tiefes Narkosestadium (Gabrisch, 2007).

Postoperativ muss die Nahrungsaufnahme der Tiere streng kontrolliert werden. Die Kaninchen kommen mit der Situation der einwöchigen Kathetereinlage individuell verschieden gut zurecht. Der Halskragen hindert die Tiere nicht an der Nahrungsaufnahme und auch nicht an der Aufnahme der Zäkotrophe, dennoch müssen die Kaninchen aufgrund der Nahrungsverweigerung gezielt gefüttert werden, um ein Entgleisen der Magen-Darm Flora und eine Gewichtsabnahme zu verhindern.

2.2. Diskussion der OP-technischen Probleme

Die Strikturinduktion und die Urethrotomia interna nach Sachse können nach anfänglicher Übungszeit standardisiert durchgeführt werden. Dabei werden 95% aller operativen Eingriffe von dem gleichen Operateur und dem gleichen Team durchgeführt.

Urethrotomia interna: Bei der Durchführung der Urethrotomia interna besteht zum einem das Risiko, dass der Operateur bei der Schlitzung extravasal (außerhalb des Lumens) gelangt. Die Extravasation der Spülflüssigkeit und des Urins mit anschließender Infektion oder eine Shuntbildung zwischen *Corpora cavernosa* und *Corpus spongiosum* können die Folge. Eine Extravasation von Kontrastmittel tritt teilweise auf, hat aber keine Folgen für den weiteren Verlauf der

Untersuchung und für den klinischen Allgemeinzustand des Tieres. Im Zusammenhang mit der Extravasation treten auch intraoperative Blutungen auf. Zu tiefe Schnitte bei der Schlitzung können zur Verletzung des *Corpus cavernosum* oder *Corpus Spongiosum* führen und die cavernösen Nerven schädigen. Beim Mensch ist eine Nebenwirkung der Urethrotomia interna daher die erektile Dysfunktion (Schneider et al., 2001).

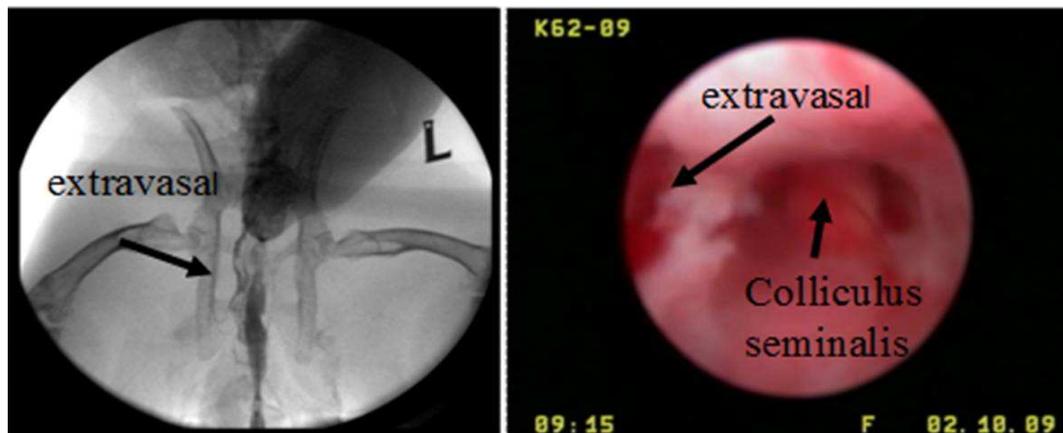


Abbildung 63: linke Abb.: Kontrastmittel verläuft extravasal; rechte Abb.: Nach der Schlitzung

Kathetereinlage: Intraoperativ stellt die exakte Katheterpositionierung am Tag 28 in der Blase aufgrund der Samenblasendrüse, die als *Via falsa* dient, ein häufig auftretendes Problem dar. Die Lage des Katheterballons in der Blase am Tag 28 muss mehrfach kontrolliert werden, bevor der Katheter angenäht werden kann. Immer wieder gleitet der Katheter in die Samenblasendrüse. Bei 2 Tieren musste zuerst ein Führungsdraht aus der Herzchirurgie (Terumo) bis in die Harnblase eingeführt werden, über welchen dann der Harnkatheter eingeführt werden kann.

Auch die Füllung des Ballons mit Kontrastmittel wird während des Versuchs verändert. Am Anfang des Versuchs wird der Ballon mit 5 ml Kontrastmittel gefüllt. Im Laufe des Versuchs wird diese Menge auf 2 bis 3 ml reduziert. Der Grund ist das starke postoperative Pressen der Tiere. Zusätzlich werden die Katheter am Präputium fixiert, da sie nicht alleine über die Blockfunktion des Ballons an Ort und Stelle gehalten werden. Der Ballon des Katheters wird durch das teilweise starke Pressen der Tiere in den Harnblasenhalsbereich gedrückt. Die Tiere pressen mit einem geringer gefüllten Ballon nach klinischer Beobachtung deutlich weniger.

Die Lage des Katheters kann sich innerhalb der einwöchigen Einlagezeit

geringgradig verändern. Entweder verschiebt sich die Position des Katheters nach distal oder nach proximal. Die 4 cm lange radioaktive Folie lag am Tag der Katheterentfernung (Tag 35) während der Kontrollröntgenaufnahmen bei allen Tieren über dem Strikturbereich. Daher ist es wichtig, dass die Folie mit Röntgenmarkierungen versehen ist. Auch die Länge der Folie hat sich als sinnvoll erwiesen. Eine zu kurze Folie würde bei eventuellem Pressen innerhalb der einwöchigen Kathetereinlage nicht immer sicher über dem zu behandelnden Bereich liegen. Bei 2 Tieren ist der Katheter in Richtung Harnröhrenausgang nach distal gerutscht, bei einem Tier (siehe Abbildung 45) deutlich in Richtung Blase. Der behandelte Bereich der Urethra ist dennoch sicher von der Folie überlagert gewesen. Die ist von Bedeutung, um das Phänomen des „Edge Effekts“ zu vermeiden (Van der Giessen et al., 2001).

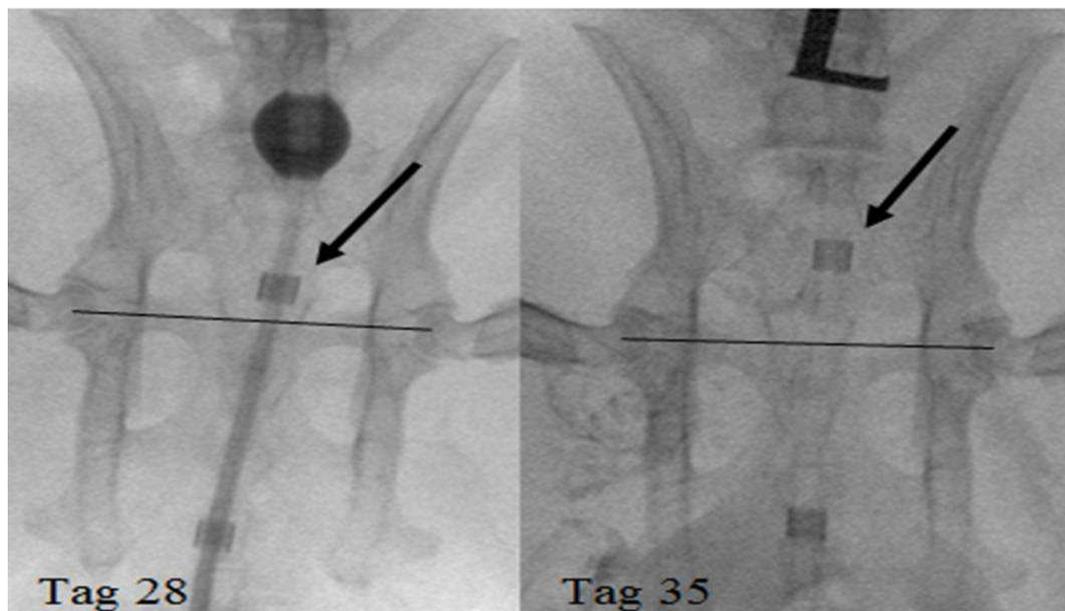


Abbildung 64: Veränderung der Katheterposition innerhalb der einwöchigen Einlagezeit

Des Weiteren stellt die intraoperativ teilweise eingeschränkte Sicht durch den physiologischen Harnries (Kalziumkristalle) des Kaninchens eine Herausforderung für den Operateur dar. Die Operationszeit verlängert sich bei schlechter Sicht. Dies spielt für die Narkoselänge an sich keine Rolle, da sie durch die Gabe eines Muskelrelaxans eine definierte Dauer hat (Abbau des Muskelrelaxans).

Das Fixieren des Katheters mittels 2er Hauthefte muss an der Innenseite des Präputiums durchgeführt werden. Werden die Fäden außen verknotet, gelingt es

den Tieren, diese zu öffnen. Diese Positionierung wird in der 2. Hälfte des Versuchs gewählt, um zu verhindern, dass sich die Tiere den Katheter durch das Eröffnen der Haltefäden entfernen können. Die Selbstmanipulation wird durch den Halskragen in der Woche der Kathetereinlage ausgeschlossen.

2.3. Diskussion der Implantatanwendung

Strahlenschutz: Bei der Anwendung der Implantate ist der Strahlenschutz des Personals durch den Plexiglasschutz beim Einführen und Entfernen der Blasenkatheter gegeben. Die Implantate lassen sich auch mit diesem Schutz leicht handhaben. Auch die zeitnahe Aktivierung der Implantate im FRM II der TU München war ohne Probleme möglich (bei technischen Problemen am FRM II wurden einige Katheter auch im FRG I, GKSS-Forschungszentrums, Geestacht aktiviert). Trotz umfassender Auswaschversuche der Katheter im Vorfeld kann bei der Messung im Stroh und Heu (Urin) mit einem Geigerzähler eine Strahlungsaktivität festgestellt werden, die allerdings deutlich unter der Freigrenze liegt (5-10fach über der Untergrundstrahlung). Aus Sicherheitsgründen wird dieses Material gesondert in einen Abklingraum gebracht und entsprechend entsorgt. Die Dichtigkeit der Katheter muss für den klinischen Einsatz am Menschen noch optimiert werden. Ziel ist es, dass die radioaktive Strahlung nicht nach außen in die Umwelt dringt und der Patient die Radioaktivität (kurze Reichweite des Strahlers von max. 6 mm) selbst abschirmt. Dies würde für den klinischen Einsatz den Vorteil bringen, dass der Patient ambulant behandelt werden könnte.

Zentrale Katheterpositionierung: Bei der Einlage der Katheter nach der Schlitzung ist zu beachten, dass der steile Dosisabfall der Betastrahler auch die Gefahr birgt, dass bei asymmetrischer Einlage der Blasenkatheter, die eine Seite der Urethra mehr bestrahlt wird, als die andere. Dieses Phänomen wurde vor dieser Studie bereits mit Hilfe einer OCT-Sonde (Optische Kohärenz-Tomographie) überprüft. Die zentrierte Einlage der Katheter ist bei ausreichend großem Durchmesser des Katheters gesichert (Püls, 2009).

3. Diskussion der Aufbereitung und Herstellung der histologischen Präparate

Die Fixierung der Harnröhre mit Formaldehyd erfolgt bei der Entnahme des

Gewebes nicht unter Druck. Das Fixierungsmittel wird unmittelbar nach der Euthanasie der Tiere mit Hilfe eines Blasenkatheters in die Urethra appliziert und verbleibt während der Gewebeentnahmezeit (ca. 15 min) dort, um eine Autolyse der Epithelzellen zu verhindern. Danach wird das Formalin entfernt und das gesamte Präparat in 4% Formalin für 5 Tage eingelegt. Anderson et al. fixieren die Urethra der Kaninchen mit einem Druck von 1.8 kPa für 30 min (Andersen et al., 2003b).

Die Harnröhre der Kaninchen wird bei der Herstellung der Präparate zur histologischen Untersuchung als „Röhrenstruktur“ belassen. Dies hat den Vorteil, dass der Umfang des Lumens beurteilt werden kann. Dadurch kann eine metrische Einteilung der Stenosegrade vorgenommen werden. Die Ausprägung der Länge der Striktur kann im Querschnitt nicht beurteilt werden.

Im Teilprojekt der Gastroenterologie des „Betamod-Projekts“ werden die Präparate des Gallengangs im Längsschnitt aufgeschnitten. Hier kann primär ein makroskopischer Eindruck der Stenose während der Präparation des Gewebes gewonnen werden. Das Gewebe wird dort auf der ganzen Länge beurteilt. Ein Vorteil dieser Methode ist es auch, dass der direkte Übergang von normalem zu stenosierte Gewebe zu beurteilen ist (Otto, 2011).

4. Diskussion der Messmethoden

Die Messmethoden zur Bestimmung des Strikturgrades und der Stenoselokalisierung werden im Folgenden diskutiert.

4.1. Messmethoden der histologischen Präparate

Das Ausmessen der histologischen Präparate mit dem Messprogramm DatInf Measure® erfolgt technisch problemlos. Bei Ausmessen des Minimums und des Maximums des Bindegewebes ist die unterschiedliche anatomische Lage der Präparate problematisch. In einigen Präparaten, die mehr in Richtung Prostatagewebe liegen, ist im gesunden Gewebe mehr Drüsengewebe vorhanden. Dort ist das Bindegewebe an sich breiter.

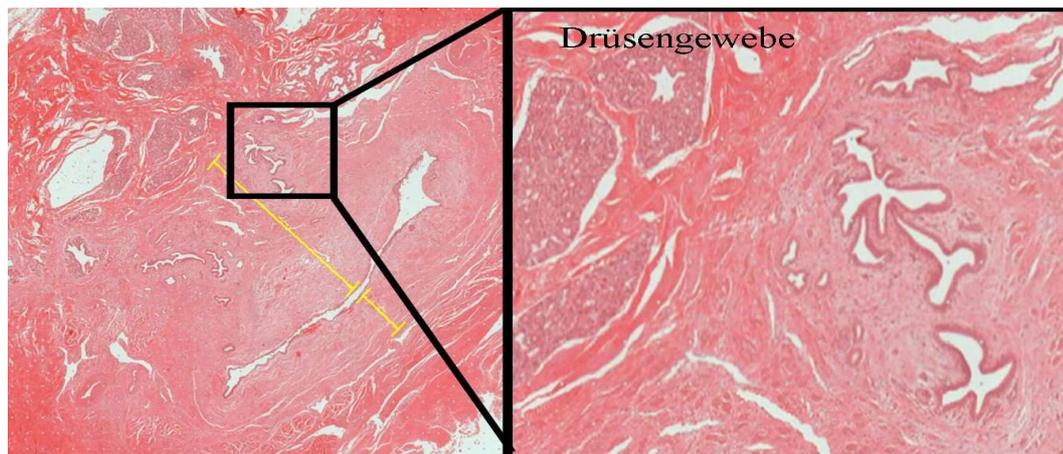


Abbildung 65: Mittelgradige Fibrose mit Drüsengewebe dorsal, 10f-Vergrößerung

Bei hochgradigen Fibrosen wie in Abbildung 66 (linkes Bild) zu sehen, lässt sich das Bindegewebe leicht abgrenzen. Bei mittelgradigen oder geringgradigen Fibrosen ist der Übergang vom Bindegewebe in die Muskulatur oft schwer zu identifizieren (Abbildung 66, rechtes Bild). Hierbei können Messfehler entstehen.

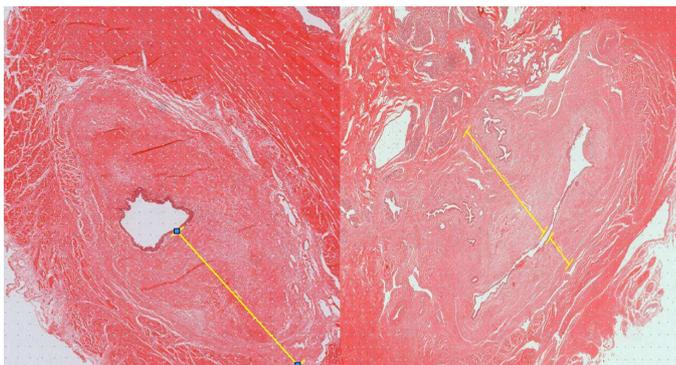


Abbildung 66: Ausmessen der Dicke des Bindegewebes im DatInf Measure® (gelb: Stecke)

Auch der Schrumpfungsgrad des Gewebes durch die Formalin-Behandlung führt zu kleinen Abweichungen (Lang, 2006).

4.2. Messmethoden des Strikturgrades

Als Messmethoden für die Stenosegrade werden die Endoskopien, die retrograden Kontrastmitteldarstellungen und die Ausmessungen des Lumens der Urethra (histologische Präparate) herangezogen. Innerhalb der Messmethoden ergeben sich unterschiedliche Ergebnisse bezüglich des Stenosegrades. Die Ergebnisse der Zystourethrogramme (röntgenologische Auswertung) sind zum einen abhängig vom Druck, mit dem der Operateur das Kontrastmittel verabreicht, und zum

anderen von der Relaxation der Urethra. Bei geringen Narbenbildungen, die keine stark sichtbare Einziehung im CUG verursachen, ist eine genaue Aussage über die Stenoseausprägung schwer. Trotz einer zusätzlich angefertigten zweiten Ebene (*latero-lateral, ventro-dorsal*) erscheint die Aussagekraft bei geringgradigen Stenosen unsicher (Stenosegrad 1, Stenosegrad 2). Wie in Abbildung 67 zu sehen, zeigt das röntgenologische Bild des Tieres am Tag 0 eine Striktur-Grad-2. Im endoskopischen Bild ist eindeutig eine Grad-1-Striktur zu sehen. Auch bei hochgradigen Stenose lässt die alleinige retrograde Darstellung der Striktur oftmals keine Aussage über die Länge und das Ausmaß der Striktur zu. Eine Darstellung von antegrad wäre in diesem Fall indiziert.

In der Humanmedizin kann hierbei zusätzlich ein Miktionszystourethrogramm angefertigt werden. Dies ist beim Kaninchen ebenfalls möglich, wird aber nicht im Rahmen dieses Versuchs durchgeführt (Meria et al., 1999). Wichtig ist es, die Urethra 3-dimensional darzustellen, um mögliche Fehlinterpretationen über das Ausmaß und die Lage der Striktur zu vermeiden (Gozzi et al., 2008).

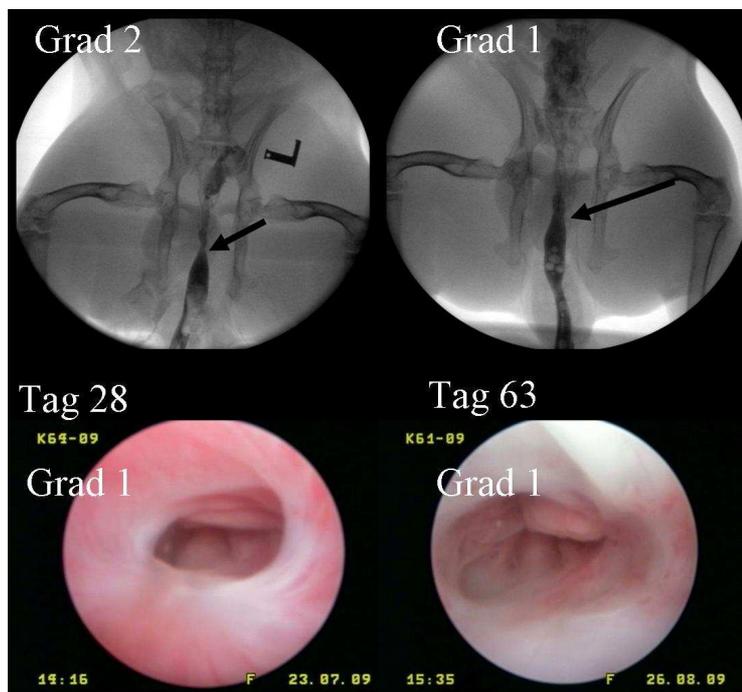


Abbildung 67. Vergleich CUG/Endoskopie (obere Reihe: CUG Tag 28 und 63, Stenosegrad 2-1; untere Reihe: Endoskopie Tag 28 und Tag 63, Stenosegrad 1-1)

Der Lumenumfang, welcher anhand der histologischen Präparate ausmessen wurde, unterscheidet sich im Stenosegrad im Vergleich zur Endoskopie am Tag

63 bei 6 Tieren und zum CUG bei 5 Tieren. Diese Unterschiede ergeben sich dadurch, dass die Einteilung nach dem Mittelwert und der Standardabweichung nicht exakt mit den klinischen Verhältnissen übereinstimmt. Zum anderen besteht die Schwierigkeit bei der Anfertigung der histologischen Präparate die Stenosestelle sicher zu treffen. Trotz vorheriger Markierung während der Gewebeentnahme ist es möglich, dass das Präparat am proximalen oder distalen Ende der Stenosestelle entnommen wird. Bei sehr dünnen Narbenspangen ist dies problematisch. Dadurch ergeben sich geringe Abweichungen vom klinischen Bild.

Da es bei der histologischen und röntgenologischen Stenosegradbeurteilung zu den beschriebenen Messfehlern kommen kann, wird die Methode der endoskopischen Beurteilung der Stenose über die Videoendoskopie in diesem Projekt als Maßstab genommen. Nachteil der Videoendoskopie ist es, dass allein eine Aussage über die Einengung des Lumens und nicht über die Länge der Striktur gemacht werden kann.

4.3. Messmethoden der Stenoselokalisierung

Die Lokalisation der Stenose wird einerseits mit den Kontrastmitteldarstellungen verifiziert (CUG), andererseits wird eine Röntgenaufnahme mit der Positionierung des Endoskops vor der Stenosestelle angefertigt.

Im CUG ist nicht immer eindeutig, wo das proximale und distale Ende der Striktur liegt. Daher ist die Bestimmung der Lokalisation über das Endoskop besser geeignet, um eine Reproduzierbarkeit der Position der Strikturinduktion zu belegen. Zudem besteht bei längerstreckigen Strikturen das Problem, dass die Stenoseposition nicht als ein Wert angegeben werden kann. Die Länge der Strikturen reicht von 0,3 bis 1,5 cm. Bei solchen Strikturen wird aus der Länge ein Mittelwert gebildet.

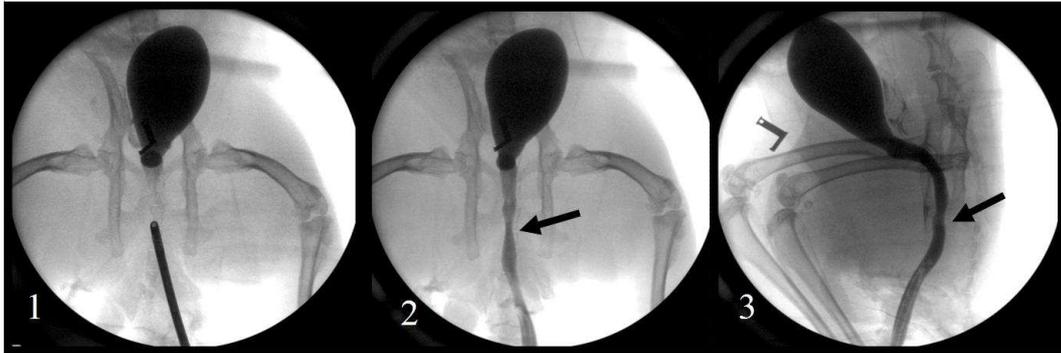


Abbildung 68: 1: Lokalisation der Strikturenposition mit dem Endoskop; 2: Lokalisation der Strikturen im CUG v/d; Lokalisation der Strikturen im CUG l/l

Wie im Ergebnisteil dargestellt, ist dies bei 5 Tieren der Fall. Die Länge der Strikturen steht bei diesem Tiere nicht im Zusammenhang mit dem Strikturengrad. Nur ein Tier zeigt diese langstreckige Strikturen bereits am Tag 28.

In der Urologie richtet sich die Behandlung der Strikturen neben anderen Kriterien auch nach der Länge der Strikturen. Kurze Strikturen (unter 1 cm) und bulbäre Strikturen ohne Spongiofibrose können mit der Urethrotomia interna behandelt werden. Längerstreckige bulbäre Strikturen bis zu 2 cm Länge werden mit einer Exzision der Narbe und einer primären Anastomose behandelt. Diese Behandlungsmöglichkeiten sind für die vordere Urethra geeignet (Gozzi et al., 2008, Peterson and Webster, 2004).

In der hinteren Urethra sind Strikturen zwar seltener, aber durch den Anstieg der radikalen Prostatektomien kommt es immer häufiger zu Strikturen im vesikourethralen oder bulbomembranösen Bereich. Die Behandlung dieser Art von Strikturen birgt ein großes Risiko für Impotenz und Inkontinenz (Zinman, 1998).

Die Lokalisation der Strikturenhöhe in diesem Tiermodell entspricht demnach einem Strikturenmodell für die hintere Urethra. Insgesamt ist die Höhe der Strikturen im Experiment stabil. Das experimentelle Vorgehen ist reproduzierbar. Somit lässt sich sagen, dass im Rahmen dieser Arbeit ein neues, reproduzierbares Striktureninduktionsmodell am Kaninchen im Bereich der *Pars pelvina urethrae* etabliert wurde.

5. Diskussion der Ergebnisse

5.1. Diskussion der Strikturinduktion

Die Strikturinduktion wurde im Vergleich zu anderen Arbeitsgruppen mit einem Diodenlasers in der *Pars pelvina urethrae* induziert. 4 Tiere (18,8 %) entwickeln aufgrund des nicht exakt platzierten Laserschadens keine Striktur (Schaden nicht zirkulär). Bei 18 Tieren, die am Tag 28 eine Striktur ausgebildet hatten, waren 83,3% der Strikturen hochgradig (Grad 3). Vergleicht man diese Ergebnisse mit den bisher in der Literatur beschriebenen, so ergeben sich folgende Unterschiede:

Meria et al. (1999) erzeugen bei 50% der behandelten Kaninchen eine Lumeneinengung der Urethra mit unter 50% Restlumen am Tag 15. Hierzu wird eine zirkuläre 3 bis 5 mm breite Koagulation mit dem Elektrokauter in der bulbären Urethra durchgeführt. Bei Anderson et al. (2003) haben 12 der 15 Kaninchen am Tag 30 eine Striktur. Hier wird die Striktur am Übergang vom spongiösen zum bulbären Teil von 2 bis 10 Uhr mit einer 2-3 mm breiten und tiefen Resektion (bis ins periurethrale Gewebe) mit einer elektrischen Schlinge induziert (Andersen et al., 2003b).

Die verschiedenen Modelle unterscheiden sich bezüglich der Lokalisationen der Strikturinduktion. Meria et al. (1999) postulieren, dass die Wundheilung der Urethra in der *Pars spongiosa* des männlichen Kaninchens durch das gut durchblutete Gewebe des unterliegenden Schwellkörpers verbessert ist und damit die geringe Strikturrate ihres Tiermodells zu erklären sei.

Auch die Induktionsmethode der verschiedenen Modelle unterscheidet sich. Meria et al. führen eine Elektrokoagulation zur Strikturinduktion durch, Anderson et al. verwenden die elektrische Schlinge. Im Rahmen dieses Projekts wird eine laserinduzierte Verletzung gesetzt, nachdem die Strikturinduktion mit einem Resektoskop nicht sicher genug zu den gewünschten Ergebnissen geführt hat. Abgesehen von der Methode ist die Tiefe der Verletzung wichtig. Die Extravasation des Urins fördert die Ausbildung einer Striktur (Meria et al., 1999). Die optische Eindringtiefe des verwendeten Diodenlasers (1470 nm) in das Gewebe liegt bei 1,5 mm. Um die Tiefe und Auswirkung der Schadensinduktion am Tag 28 zu verifizieren, wäre eine histologische Untersuchung des Gewebes an diesem Tag sinnvoll. Wie weit die Koagulationszone in diesem Versuch ins Gewebe der Urethra reicht, darüber liegen keine Daten vor.

Jedenfalls stellt dieses neu entwickelte Laserverfahren zur Strikturinduktion ein sicheres und reproduzierbares Tiermodell für Stenosen der hinteren Urethra dar.

5.2. Diskussion der Stenosegrade – Gray

Insgesamt gibt es keine Verschlechterung des Stenosegrades innerhalb des Versuchs. Entweder bleibt die Ausprägung der Stenose von Tag 28 bis zum Tag 63 gleich, das heißt die Tiere entwickeln ein Rezidiv, oder es gibt eine Verbesserung des Strikturgrades 4 Wochen nach der durchgeführten Therapie um ein oder zwei Grade.

Aufgrund der unterschiedlichen Stenosegrade am Tag 28 (Beginn der Therapie) in den 3 Dosis-Gruppen kann nicht davon ausgegangen werden, dass alle Versuchstiere vom gleichen Schweregrad der Erkrankung starten. 3 Tiere beginnen am Tag 28 mit einem geringeren Stenosegrad als Stenosegrad 3 (2 Tiere mit Stenosegrad 1, 1 Tier mit Stenosegrad 2). Nach Entblinden der Studie erscheinen diese drei Tiere in der 0-Gy-Gruppe. Diese zufällige Anordnung erklärt sich aufgrund des randomisierten und verblindeten Studiendesigns. Sinnvoll wäre es gewesen, diese Tiere von der Studie auszuschließen, damit alle Tiere innerhalb der verschiedenen Gruppen (0, 15, 30 Gy) die gleichen Voraussetzungen bei Beginn der Therapie am Tag 28 haben. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sich in der 15-Gy-Gruppe die meisten Tiere verbessert haben (4/6). In der 0-Gy-Gruppe und der 30-Gy-Gruppe haben sich weniger Tiere (2/6) verbessert. Betrachtet man den Grad der Verbesserung der einzelnen Tiere, so befinden sich in der 0-Gy-Gruppe 2 Tiere, die sich um 2 Stenosegrade verbessert haben. Diese 2 Tiere verzeichnen den besten Therapieerfolg.

Die Rezidivwahrscheinlichkeit bei Harnröhrenstrikturen, die mit einer Urethrotomia interna behandelt werden, liegen bei 50-60%. Im Bereich der bulbären Harnröhre können sich jedoch bei kurzstreckigen Strikturen unter 1,5 cm beim Menschen auch geringer ausfallen (Gozzi et al., 2008).

Betrachtet man die Rezidivrate innerhalb der verschiedenen Dosis-Gruppen haben 55% der Tiere ein Rezidiv entwickelt. Innerhalb der radioaktiven Gruppen insgesamt 50% der Tiere, wobei in der 15-Gy-Gruppe nur 33,3% Tiere ein Rezidiv ausgebildet haben. Ob dieser Trend in der 15-Gy-Gruppe aufgrund der geringen Fallzahl in dieser Studie zustande kommt, muss in folgenden Studien mit

einer größeren Fallzahl geklärt werden. Diese explorative Orientierungsstudie dazu keine Signifikanzen liefern und nur einen „Trend“ darstellen

Tendenziell kann man sagen, dass sich zwischen der 15-Gy-Gruppe und der 30-Gy-Gruppe bezüglich der Stenosegrad-Entwicklung von Tag 28 bis zum Tag 63 ein Unterschied abzeichnet. Dies ist statistisch aufgrund der geringen Fallzahl nicht zu belegen, dennoch kann man davon ausgehen, dass die 15-Gy-Dosis näher am gewünschten Effekt liegt. Da dieses Experiment ein Pilotprojekt ist, ist nicht davon auszugehen, dass man in einer Studie eine neue Therapiemöglichkeit mit all ihren technischen Herausforderungen und gleichzeitig eine Dosisfindungsstudie kombinieren kann.

5.2.1. Diskussion der Tiere mit dem besten Therapieerfolg

Die Tiere in der 0-Gy-Gruppe, die den besten Therapieerfolg haben (von Stenosegrad 3 am Tag 28 auf Stenosegrad 1 am Tag 63), haben keine Anzeichen einer Entzündung im Urothel und im Bindegewebe. In der α -SMA-Färbung lassen sich keine Myofibroblasten anfärben. Der Fibrosegrad bei beiden Tieren beträgt 1. Da keine Myofibroblasten angefärbt werden können, ist anzunehmen, dass sich der Wundheilungsprozess des umliegenden Gewebes bereits in einer späteren Phase befindet (Jocham, 2007, Velnar et al., 2009, Souza-Offtermatt, 2004). Hinz et al. (2007) zeigen, dass die Myofibroblasten am Ende der Reparationsphase durch Apoptose zugrunde gehen, wenn zum einen das defekte Gewebe durch ausreichende extrazelluläre Matrix ersetzt ist und zum anderen der mechanische Druck bzw. die Zugbelastung der Wunde nicht mehr vorhanden ist. Im Fall einer Urethrotomia interna kommt es durch das Auseinanderklaffen der Wundränder immer zu einer sekundäre Wundheilung (Gozzi et al., 2008).

Die Annahme, dass die Wundheilung dieser Tiere weit fortgeschritten ist, könnte histologisch belegt, wenn innerhalb des Versuches an bestimmten Tagen histologische Präparate angefertigt worden wären. Die anderen Tiere der 0-Gy-Gruppe sind in ihrem Stenosegrad von Tag 28 bis Tag 63 gleich geblieben. Man kann aufgrund der geringen Fallzahl nur spekulieren, warum diese 2 Tiere in der 0-Gy-Gruppe sich gut entwickelt haben. Ein Tier hat eine hochgradige Urethritis am Tag der Katheterentfernung. Beide Tiere haben am Tag 35 bei der Katheterentfernung ein relativ weites Lumen der Harnröhre. Alle Tiere mit dem 15-Gy-Katheter und 83,3 % der Tiere mit dem 30-Gy-Katheter haben am Tag 35

nach den endoskopischen Bildern, bereits eine Woche nach der Therapie, ein engeres Lumen der Urethra.

Eine weitere Frage ist, ob die Art der Schlitzung (dorsal, ventral, multipel) einen Unterschied auf die Rezidivbildung der Strikturen gemacht hat. Pansadoro et al. postulieren, dass multiple Einschnitte der Harnröhre an verschiedenen Stelle die Rezidivrate nicht günstig beeinflussen (Pansadoro and Emiliozzi, 1998).



Abbildung 69: Stenosegrad-Entwicklung (Tag 28: Stenosegrad 3; Tag 63: Stenosegrad 1)

Ob diese Tiere mit dem besten Therapieerfolg zufällig in der 0-Gy-Gruppe sind oder ob die Therapie mit einem nativen Katheter bei einer größeren Fallzahl die besseren Ergebnisse liefern würde, lässt sich in dieser Studie nicht beantworten.

5.2.2. Diskussion der Tiere mit geringgradigen Strikturen am Tag 28

3 Tiere (Nr. 13, 14, 15, siehe Tabelle 4, Kapitel IV.5.1.) haben am Tag 28 keine hochgradige Strikturen (Stenose Grad 2, Stenosegrad Grad 1) ausgebildet.

Nr. 14: Bei diesem Tier wird die Strikturen-induktion zweimal durchgeführt, da der Schaden bei der ersten Strikturen-induktion nicht zirkulär gewesen ist (siehe Kapitel IV.5.3) Bei der zweiten Strikturen-induktion wird der Laserschaden erneut nicht zirkulär gesetzt. Das Ergebnis am Tag 28 ist eine Strikturen Grad 1.

In diesem Tiermodell ist die exakte Platzierung der Verletzung am Tag 0 durch den Diodenlaser die Voraussetzung für eine hochgradige Strikturen.

Nr. 15: Bei einem weiteren Tier, das am Tag 28 eine geringgradige Strikturen

entwickelt hat, wird bei der Strikturinduktion primär nur der *Colliculus seminalis* mit angrenzendem Gewebe von der Laserenergie getroffen.

Nr. 13: Bei Tier Nr. 13 wird vorwiegend auf 12 Uhr gelasert.

Anderson et al. (2003) resezieren tief periurethral ins Gewebe, um durch die Extravasation die Narbenbildung zu forcieren. In diesem Modell ist vor allem die zirkuläre Positionierung des Schadens ausschlaggebend für Ausbildung einer Grad 3 Stenose.

Die Schwierigkeit der gleichmäßigen zirkulären Stenoseinduktion liegt darin, dass der Operateur das Endoskop, durch welches die Laserfaser geführt wird, während des Laservorgangs ruhig halten muss, eine geringe Bewegung während der durchschnittlich 10 sec kann das Ergebnis negativ beeinflussen. Bei Stoppen der Spülung vor der Laserbehandlung sollte das Gewebe gleichmäßig an der Laserfaser anliegen und die Faser zentral in der Urethra platziert sein.

5.3. Diskussion der histologischen Ergebnisse

5.3.1. Diskussion der histologischen Ergebnisse in Bezug auf die Epitheldicke und Veränderungen am Epithel

- Die Messdaten des Minimums des Urothels in Abhängigkeit von der Dosis und den Stenosegrad-Gruppen sind nicht signifikant

Das Urothel der männlichen Kaninchen ist in der Regel zwei- bis vierschichtig, iso- bis hochprismatisch, bzw. als Übergangsepithel vorhanden. Das Urothel kann in seiner Formation von verschiedenen Faktoren beeinflusst werden. Chronische Entzündungen, mechanische Belastungen oder auch eine Strahlentherapie angrenzender Organe der Urethra können zur Veränderung des Urothels führen (Klosterhalfen et al., 2007). Das Minimum des Urothels wurde an intakten Stellen bestimmt, die keiner Ulzeration oder Erosion unterliegen. Auch ein mechanischer Schaden an der Schleimhaut der Urethra durch die Manipulation mit dem Endoskop oder allein durch die Einlage des Katheters sind möglich.

Das Urothel kann durch radiogene Noxen soweit geschädigt werden, dass es in Folge der Bestrahlung zu einer Abflachung bzw. Atrophie kommen kann (Klosterhalfen et al., 2007). Eine Abflachung des Urothels konnte nicht nachgewiesen werden. Noch Wochen nach einer Bestrahlung können akute

Strahlenschäden auftreten (Stone et al., 2003) Der akute Strahlenschaden des Urothels äußert sich in vaskulären Störungen (nekrotisierende Vaskulitis) und Ödemen im Bereich der *Lamina propria*. Später kann es zur Urothelhyperplasie oder Metaplasie kommen. (Remmele, 1997, Wannemacher, 2006).

- Beim Maximum des Urothels gibt es zwischen der Stenosegrad-Grad-2 Gruppe und der Stenose-Grad-3 Gruppe einen signifikanten Unterschied

Hyperplastische und metaplastische Veränderungen führen zu einer Zunahme der Dicke des Urothels. Da neben den metrischen Daten die Tiere mit dem höchsten Stenosegrad das breiteste Urothel haben, scheint hier ein Zusammenhang zu bestehen. 5 Tiere der 30-Gy-Gruppe haben eine Hyperplasie des Urothels am Tag 63. 1 Tier der 0-Gy-Gruppe weist ebenfalls eine hyperplastische Veränderung an einer Stelle auf. Die hyperplastischen Veränderungen treten nicht bei Tieren mit einem geringen Stenosegrad auf. Alle Tiere mit dieser Veränderung haben entweder einen Stenosegrad 3 (4 Tiere) oder einen Stenosegrad 2 (2 Tiere). Ein Tier der 15-Gy-Gruppe zeigt eine metaplastische Veränderung des Urothels. Die Metaplasie wird in der Literatur als mögliche präkanzerogene Stufe angesehen (Rathert, 1995, Remmele, 1997). Hyperplastische Veränderungen des Urothels können auch alleine aus einem chronischen Entzündungsreiz resultieren (Rathert, 1995). Dass es bei hochgradigen Stenosen zur einer squamösen Veränderung des Epithels kommt, zeigen bereits mehrere Studien (Scott and Foote, 1980, Scherz et al., 1992, Anidjar et al., 1999, Chambers and Baitera, 1977).

Ob die Hyperplasie oder die Metaplasie des Urothels nur im Zusammenhang mit der Striktur oder auch im Zusammenhang mit der Bestrahlung steht bleibt offen. Metaplasien können reversibel sein (Scott and Foote, 1980, Heinzeller and Büsing, 2001). Auch durch die Einlage des Harnkatheters an sich, kann es zur Metaplasie des Urothels kommen (Scherz et al., 1992).

Die Regenerationszeit des Urothels ist sehr lange (240 Tage bei Ratten) (Schreiber et al., 1969), das heißt, dass sich akute Strahlenschäden am Übergangsepithel erst spät zeigen (Antonakopoulos et al., 1982).

5.3.2. Diskussion der histologischen Ergebnisse der Fläche und des Umfangs des Lumens und des Bindegewebes

Die Messergebnisse des Umfangs und der Fläche des Lumens und der Fläche des

Bindegewebes (*Lamina propria*) sind wichtig für die Beurteilung des Stenosegrades und der damit einhergehenden Veränderung des Gewebes.

In der Literatur wird die Frage kontrovers diskutiert, welche Veränderungen die Strikturen verursachen: Ob die Menge an Kollagen zunimmt oder ob sich die Struktur des Kollagen ändert. Auch ein Missverhältnis der einzelnen Kollagentypen zueinander, welches die Festigkeit der Narbe beeinflusst, wird diskutiert (Cavalcanti et al., 2007, Morgia et al., 2000, Baskin et al., 1993).

- Der Umfang des Lumens der Harnröhre ist zwischen Stenosegrad-1 und Stenosegrad-3 und zwischen dem Stenosegrad-2 und dem Stenosegrad-3 signifikant. Auch bei der Fläche des Lumens gibt es zwischen der Stenosegrad-1-Gruppe und der Stenosegrad-3-Gruppe eine Signifikanz

Der Umfang des Lumens unterscheidet sich zwischen den Stenosegrad-Gruppen signifikant. Dies kann als ein zusätzlicher Beleg dafür angesehen werden, dass je höher der Stenosegrad ist, desto enger wird das Lumen. Besonders zwischen hochgradigen und geringgradigen Stenosen zeigt sich hier ein Unterschied.

- Der Umfang und die Fläche des Lumens zeigen in Abhängigkeit von der Dosis keine Signifikanz

Die 0-Gy-Gruppe hat im Mittel einen circa doppelt so großen Umfang und eine doppelt so große Fläche wie die 30-Gy-Gruppe.

Da sich in allen Dosis-Gruppen am Tag 63 Tiere mit verschiedenen Stenosegraden und damit unterschiedliche Urothelflächen befinden, kann bei dieser kleinen Fallzahl kein signifikanter Unterschied in Abhängigkeit von der Dosis gesehen werden. In der 30-Gy Gruppe befinden sich zwar die meisten Tiere mit einer hochgradigen Stenose und in der 0-Gy-Gruppe die meisten Tiere mit der geringgradigen Stenose, aber dies ist statistisch nicht signifikant. Bei der Beurteilung der therapeutischen Wirkung der Dosis-Gruppen ist nicht nur auf die Einengung des Lumens am Tag 63, sondern auf die Entwicklung der Fläche und des Umfangs des Lumens von Tag 28 bis zu Tag 63 zu achten. Da von Tag 28 kein Messwert vorliegt, kann dies nicht beurteilt werden.

Die Fläche des Lumens ist zudem vom Zustand der Fixation des Präparates abhängig. Die Urethra mit einem geringeren Stenosegrad (Grad 1) kollabiert nach der Fixation und zeigt eine kleinere Fläche als eine hochgradig stenosierte

Urethra, deren Narbengewebe das Lumen starr werden lässt. Daher kann der Umfang des Lumens als stabilerer Wert für die Stenosegrad-Ausprägung angesehen werden.

- Die Fläche des Bindegewebes alleine (*Lamina propria*) zeigt in Bezug auf die Stenosegrade und die Dosis-Gruppen keine Signifikanz

Zwischen den verschiedenen Stenosegrade gibt es in Bezug auf die Fläche keine Signifikanz. Bei hochgradigen Strikturen ist die Struktur der *Lamina propria* verändert. Durch die Fibrose besteht das Gewebe vorwiegend aus kollagenen Fasern. Die lockere und gefäßreiche Schichtung des peri- und suburethralen Bereichs ist aufgehoben (Morgia et al., 2000). Wie 1976 postuliert, nimmt der Gehalt an kollagenen Gewebe zu, die elastischen Fasern und der Anteil der glatten Muskulatur nimmt ab (Singh and Blandy, 1976). Die Zubildung an Kollagen ersetzt das lockere Bindegewebe, aber metrisch verändert sich die Fläche des Bindegewebes nicht. Durch den Gehalt an Kollagen und die daraus resultierende Narbenbildung wird das Gewebe unflexibler, die Striktur entsteht. Ob der Gehalt an Kollagen zunimmt, lässt sich in dieser Studie nicht klären, lediglich die Umstrukturierung des Gewebes wird festgestellt. Welche Kollagentypen im Strikturbereich vorhanden sind, kann man mit einer speziellen Kollagenfärbung untersuchen. Baskin et al. postulieren ein verändertes Kollagen Typ I/III Verhältnis zugunsten von Kollagen Typ III (Baskin et al., 1993). Die Struktur der Kollagenfibrillen kann auch elektronenmikroskopisch untersucht werden (Scott and Foote, 1980).

- Das Minimum und Maximum der Bindegewebedicke zeigt in Bezug auf die Stenosegrade und die verschiedenen Dosis-Gruppen (0, 15, 30) keinen signifikanten Unterschied

Trotz der subjektiv dicker erscheinenden Bindegewebsschicht bei hochgradig stenosierte Bereiche ist diese Annahme nicht statistisch zu belegen. Bei den hochgradig fibrotisch veränderten Harnröhren ist eine deutliche Abgrenzung der Fibrose zum Normalgewebe zu erkennen wie in Abbildung 70 zu sehen ist.

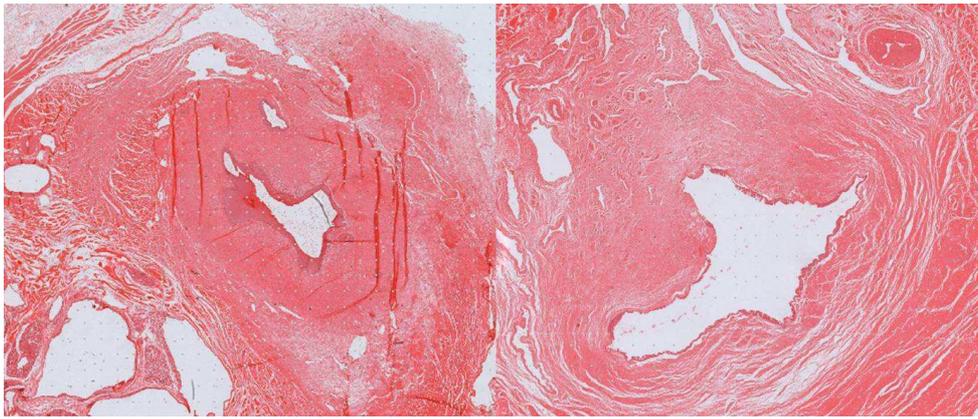


Abbildung 70: rechte Abb.: Stenosegrad 3, linke Abb.: Stenosegrad 2

Bei mittelgradigen Stenosen ist diese Abgrenzung schwieriger. Meist ist eine Abgrenzung nach ventral problematisch, wie in der rechten Abbildung 70 zu sehen. Hochgradige Strikturen sind zirkulär fibrotisch verändert. Bei geringergradigen Strikturen tritt hauptsächlich im ventralen Bereich (Bereich der Schlitzung) die fibrotische Veränderung auf.

5.3.3. Diskussion der Ergebnisse der α -SMA-Färbung

In der Routinediagnostik werden die Myofibroblasten mit immunhistochemischen Markern angefärbt. Dass α -glattmuskuläre Aktin kann neben dem nicht-muskulären Myosin als Marker für Myofibroblasten dienen (Neuhaus et al., 2007).

- Die 0-Gy-Gruppe unterscheidet sich in der Menge an α -glattmuskulärem Aktin signifikant von der 30-Gy-Gruppe, zwischen der 15-Gy-Gruppe und der 30-Gy-Gruppe gibt es keine Signifikanz

Bildet man die Mittelwerte innerhalb der verschiedenen Gruppen in Abhängigkeit von der Dosis (Gy) (Mittelwert: 0-Gy-Gruppe = 0,16; 15-Gy-Gruppe = 1,5; 30-Gy-Gruppe = 2,0) so enthalten beide radioaktiven Gruppen tendenziell ähnliche Mengen an α -glattmuskulärem Aktin. Zwischen der 0-Gy-Gruppe und der 15-Gy-Gruppe gibt es statistisch keinen signifikanten Unterschied. Betrachtet man die Mittelwerte dieser beiden Gruppen, so fällt auf, dass sich in den histologischen Präparaten der 15-Gy-Gruppe mehr α -glattmuskuläres Aktin anfärben lässt.

- Die Menge der angefärbten Myofibroblasten korreliert mit der Dosis (Gy) Das heißt, je höher die Dosis ist, umso mehr Myofibroblasten sind im Gewebe vorhanden

Ein Ziel des „BetaMod-Projekts“ ist es, durch eine gezielte antiproliferative Bestrahlung mit einem Betastrahler in der initialen Phase der Wundheilung die Narbenbildung zu reduzieren. Da es bisher nur klinische Erfahrungen mit der Behandlung von Harnröhrenstrikturen mit Gammastrahlern im Sinne einer HDR-Brachytherapie gibt, ist dies der erste Tierversuch, der die histologischen Veränderungen am Gewebe durch eine Bestrahlung mit einem Betastrahler in Kombination mit einer Urethrotomia interna zur Rezidivprophylaxe an der Urethra untersucht.

Die Wirkung der ionisierenden Strahlung bei der Wundheilung beruht auf der verminderten Bildung von Wachstumsfaktoren (z.B. TGF- β , PDGF) und inflammatorischen Zytokinen (z.B. IL-1, TNF), von denen die Proliferation und Differenzierung der Fibroblasten bzw. Fibrozyten gesteuert werden. Da die Myofibroblasten eine Schlüsselfunktion in der physiologischen, aber auch pathologischen Geweberekonstruktion im Rahmen der Wundheilung haben, ist die Proliferationshemmung dieser Zellen ein Target der Bestrahlung (Hinz, 2007, Kröpfl et al., 2004, Rodemann, 2006).

Eine Verminderung der Myofibroblasten im bestrahlten Gewebe konnte in diesem Versuch nicht erzielt werden. Obwohl in-vitro Versuche zu einer Reduktion der Fibroblasten geführt haben, konnte dieses Phänomen in dieser Studie nicht gezeigt werden. In vitro kommt es durch eine fraktionierte Bestrahlung mit einer Gesamtdosis von 3 Gy zu einer Reduktion der Vorläuferzellen der Myofibroblasten (Rodemann, 2006)

Wie in-vitro Untersuchungen der Arbeitsgruppen von Rodemann (Bumann et al., 1995, Burger et al., 1998, Rodemann and Bamberg, 1995, Herskind et al., 1998, Hakenjos et al., 2000) und Begg (Lara et al., 1996, Russell et al., 2000) belegen, dass sich Fibroblasten aus humanem Bindegewebe nach Strahlenexposition im Dosisbereich über 5 Gy innerhalb von ca. 21-25 Tagen nahezu vollständig zu irreversibel postmitotischen Fibrozyten differenzieren. Die Proliferations- und Funktionskompartiment des Fibroblasten-Fibrozytensystems liegt normalerweise im Verhältnis 2:1 vor. Das bedeutet, dass das Fibroblastenzellsystem zum einen aus regenerativen Progenitorfibroblasten besteht, die sich entlang der Differenzierungssequenz MF I-MF II- MF III durch Zellteilung entwickeln, und zum anderen aus einem Funktionskompartiment. In dem Funktionskompartiment entstehen aus den Progenitorfibroblasten MF III durch eine terminale

Differenzierungsteilung postmitotischen Funktionsfibrozyten (PMF) als biochemisch aktive Zellen des Fibroblastensystem (Rodemann, 2006). Postmitotische Funktionsfibrozyten produzieren Kollagen. Bei einer Differenzierungsteilung des Progenitorfibroblasten MF II zu MF III können je nach physiologischen oder pathophysiologischen Bedingungen auch Myofibroblasten entstehen, die durch die Expression des α -smooth-muscle-actin (α -SMA) charakterisiert und identifiziert werden können (Rodemann 2011 persönliche Mitteilung). Diese verweilen in Abhängigkeit von dem gewebespezifischen physiologischen/pathophysiologischen Status unterschiedlich lange, bevor sie dann in die terminal differenten postmitotischen Fibrozyten übergehen. Das Auftreten von Myofibroblasten im Zuge der strahleninduzierten terminalen Differenzierung des Fibroblastensystems ist deutlich von der Dosis und vermutlich auch von der Dosisrate abhängig. Bislang unveröffentlichte Befunde der AG Rodemann postulieren, dass eine Bestrahlung im niederdosierten Bereich (Dosisbereich 0.2 - 1.0 Gy) mit Röntgenstrahlen das strahleninduzierte Auftreten von Myofibroblasten minimieren kann (Rodemann 2006). Bestrahlt man hingegen im Hochdosisbereich (> 10 Gy), so kann der Anteil von Myofibroblasten und deren Verweildauer bis zum Differenzierungsschritt in terminal differenzierte PMF deutlich gesteigert sein kann (Rodemann 2011, persönliche Mitteilung). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit hinsichtlich des Vorhandenseins von α -SMA bis zu 35 Tage nach Strahlenexposition im Bereich von 15 bzw. 30 Gy können möglicherweise durch das strahleninduzierten Differenzierungsgeschehens von Progenitorfibroblasten zu Funktionsfibrozyten (PMF) und dem spezifischen Auftreten von Myofibroblasten im strahleninduzierten Differenzierungsgeschehen erklärt werden. Da sich die Menge an α -SMA in der 0-Gy-Gruppe im Vergleich zur 30-Gy-Gruppe signifikant unterscheidet, kann über einen möglichen Einfluss der Bestrahlung auf die Anwesenheit der Myofibroblasten spekuliert werden. Die radioaktiven Gruppen haben mehr Myofibroblasten, als die unbestrahlte Gruppe. Wenn man von der Annahme ausgeht, die Proliferation durch die Bestrahlung zu verhindern, wurde mit diesen Dosisraten der Prozess nicht verhindert. Andererseits wird bei Dosen ab 10 Gy ein antiproliferativer Effekt bei benignen Erkrankungen gesehen (Seegenschmiedt et al., 2000).

Myofibroblasten werden oft in bestrahltem Gewebe mit einer exzessiven

Kollagenzubildung gesehen. Diese vermehrter Kollagenproduktion endet in einer strahleninduzierten Fibrose (Denham and Hauer-Jensen, 2002). Der Status der Wundheilung kann in diesem Projekt nur am Tag 63 verifiziert werden. Durch eine längere Nachbeobachtungszeit (mindestens 6 Monate) kann der Verlauf und die endgültige Entwicklung des Narbengewebes beurteilen und eine definitive Aussage über die Folgen der Bestrahlung getroffen werden.

- Die Stenosegrad-2-Gruppe und die Stenosegrad-3-Gruppe unterschieden sich in Bezug auf die Menge an Myofibroblasten signifikant. Die Menge der Myofibroblasten korreliert mit dem Stenosegrad

Diese Ergebnisse bestätigen, dass eine erhöhte Menge an Myofibroblasten zu einer stärkeren Narbenbildung und Kontraktilität der Wunde führt und dadurch ein Strikturrezidiv entstehen kann (Lorena et al., 2002).

Ob es sich in diesem Fall um einen verzögerten Start der Wundheilung durch die Bestrahlung handelt oder ob durch die Bestrahlung eine Proliferation der Zellen induziert wurde, darüber kann man nur zu spekulieren (Seegenschmiedt et al., 2000). Wenn viele Zellen mit einem klonogenem Potential die Bestrahlung überleben, kann dies zu einem verzögerten Beginn der Restenose führen (Rubin et al., 1999).

In vivo spielen anders als bei in-vitro Versuchen verschiedenen Faktoren zusammen, die sich gegenseitig beeinflussen. Die Wundheilung ist ein dynamischer Prozess. Die Gesamtdosis, die Dosisrate und die Dauer der Bestrahlung für muss für die Behandlung der Harnröhrenstrikturen noch ermittelt werden. Trotz jahrelanger Erfahrung mit der Strahlentherapie sind die Zusammenhänge der radiobiologischen antiproliferativen Wirkmechanismen nicht im Detail geklärt (Rodemann, 2006).

Ist aber schon vor der Radiotherapie ein Granulationsgewebe ausgebildet ist, hat die Bestrahlung nur einen geringen Einfluss auf die Narbe. Die Bestrahlung kann hier nur die weitere Narbenbildung infolge der Urethrotomia interna verhindern (Shin et al., 2006).

Dass sich die induzierte Striktur nach 4 Wochen noch in der Wundheilungsphase befindet, zeigen mehrere Studien (Singh and Blandy, 1976, Meria et al., 1999). Dabei wird in die noch nicht abheilte Wunde eine weitere Verletzung durch die

Schlitzung gesetzt und zusätzlich bestrahlt.

Eine mögliche weitere Erklärung für die Menge an Myofibroblasten im bestrahlten Gewebe könnte sein, dass durch die chronische Entzündung TGF- β hochreguliert wird, welches wiederum die Myofibroblastenbildung aktiviert (Denham and Hauer-Jensen, 2002).

5.3.4. Diskussion der Ergebnisse der entzündlichen Veränderungen in der histologischen Untersuchung

- Über die Hälfte der Tiere (52,6%) hat im Urothel keine entzündliche Veränderung. Bezüglich der Dosis-Gruppen unterscheiden sich die Tiere nicht signifikant. In der 15-Gy-Gruppe befinden sich allerdings die meisten Tiere ohne eine entzündliche Veränderung des Urothels. Auch innerhalb der Stenosegrad-Gruppen lassen sich keine Signifikanzen berechnen. Die Tiere mit dem Stenosegrad-2 haben verglichen mit den anderen Gruppen dennoch die geringste Entzündung im Urothel

Die entzündlichen Veränderungen des Urothels sind akut. Es kommt es zu Infiltration mit neutrophilen Granulozyten. Die neutrophilen Granulozyten werden wegen ihrer azidophilen Anfärbung beim Kaninchen auch „pseudoeosinophile“ Granulozyten bezeichnen. Im Bereich der *Lamina propria* kommt es zu einer chronischen Entzündung mit mononukleären Entzündungszellen (Makrophagen, Lymphozyten und Plasmazellen) (Kraft, 2005).

Bei akuten Entzündungen der Urethra kommt es innerhalb der Urothels zu einer Ansammlung von Granulozyten mit einer Ödembildung und einer Abflachung der Urothels, auch bei Strahlenschäden kann es zu einer entzündlichen Infiltration kommen (Rathert, 1995). Bei der Bestrahlung des Übergangsepithels an der Blase kommt es nach einer einmaligen Dosis von 20 Gy akut nicht zu Veränderungen am Urothel (Antonakopoulos et al., 1982).

Auch ohne eine Bestrahlung kommt es allein durch die Extravasation des Urins und die Traumatisierung der Urethra durch die Schlitzung zu einer entzündlichen Reaktion im Rahmen der Wundheilung (Scherz et al., 1992).

- Bei entzündlichen Veränderungen der *Lamina propria* gibt es weder bei den Dosis-Gruppen, noch bei den Stenosegrad-Gruppen eine Signifikanz. Tendenziell kann man sagen, dass die 0-Gy-Gruppe und die 15-Gy-

Gruppe weniger entzündliche Reaktionen zeigen als die 30-Gy-Gruppe.

Aufgrund der niedrigen Fallzahlen lassen sich keine Signifikanzen innerhalb und zwischen den einzelnen Gruppen berechnen, tendenziell kann gesagt werden, dass die 15-Gy-Gruppe insgesamt die geringste entzündliche Veränderung zeigt.

Die Betastrahlung soll die Einwanderung von Entzündungszellen vermindern und dadurch die entzündliche Reaktion und deren Folgeschritte so gering wie möglich im OP- Gebiet halten. Wissenschaftliche Untersuchungen und Ergebnisse des Vorläuferprojekts (RadBioMat-Projekt) belegen diesen Effekt (Held, 2007, Hildebrandt, 2006).

Antiinflammatorische Effekte ergeben sich bei einer Bestrahlungsgesamtdosis Dosen von 2 bis 6 Gray (Seegenschmiedt et al., 2000, Trott and Kamprad, 1999). Studien zur Bestrahlung von entzündlichen Erkrankungen wurden erfolgreich mit fraktionierter Bestrahlung in kleinen Dosen von 0,5 bis 1 Gy durchgeführt (Trott and Kamprad, 1999). Die Wirkmechanismen, die durch die Bestrahlung auf die verschiedenen Zellen der Wundheilung und somit auf die Entzündung wirken, sind komplex. Lymphozyten, endotheliale Zellen, Makrophagen und Monozyten, spezifische Gene werden je nach Bestrahlungsdosis aktiviert oder deaktiviert. Zum Beispiel kann die Stickstoffmonoxid Produktion der Makrophagen bei einer Bestrahlung mit 5 - 10 Gy erhöht und bei einer Bestrahlung vom 0,3-0,6 Gy erniedrigt werden (Stickstoffmonoxid fördert die Entzündung). Grundsätzlich kann zusammengefasst werden, dass eine hohe Bestrahlungsdosis proinflammatorisch wirkt und eine niedrige Bestrahlungsdosis einen antiinflammatorischen Effekt hat, vorausgesetzt die bestrahlten Zellen befinden sich alle im gleichen Zellstadium (Trott and Kamprad, 1999).

Die Entzündung fördert die Entstehung der Fibrose, indem Cytokine gebildet werden, die wiederum die Myofibroblasten aktivieren (Denham and Hauer-Jensen, 2002). Daher ist der Effekt der 30-Gy-Dosis aufgrund der höchsten Entzündung nicht erwünscht.

5.3.5. Diskussion der Fibrosegrade

- Zwischen den verschiedenen Gruppen in Abhängigkeit von der Dosis und den Stenosegrad-Gruppen gibt es bezüglich des Fibrosegrades keine Signifikanz. Die 0-Gy-Gruppe und die 15-Gy-Gruppe haben den gleichen

Fibrosegrad

Die Tiere mit einem höheren Stenosegrad zeigen tendenziell eine hochgradigere fibrotische Reaktion des Bindegewebes. Dies lässt sich nicht statistisch belegen. Die 0-Gy-Gruppe und die 15-Gy-Gruppe unterscheiden sich nicht im Fibrosegrad, wobei die 30-Gy-Gruppe mehr fibrotisch verändertes Gewebe enthält. Hier kann spekuliert werden, ob die Bestrahlung mit einer 30-Gy-Dosis eine verstärkte fibrotische Reaktion hervorgerufen hat. In der 30-Gy-Gruppe lassen sich zudem die meisten Myofibroblasten anfärben.

Eine Fibrose besteht aus einer vermehrten Ansammlung an extrazellulärer Matrix und Kollagen (Wynn, 2008). Dieses Ersatzgewebe führt zur Steifigkeit des betreffenden Areals. Eine Fibrose tritt auf, wenn mehr Kollagensynthese als Kollagenabbau oder Kollagenumbau stattfindet. (Wynn, 2008). Die radioaktive Bestrahlung alleine führt auch zu einem Strahlenschaden, wie bei den unbehandelten Tieren mit dem 60-Gy-Katheter zu sehen war. Die Toleranzdosis der Urethra liegt bei über 80 Gy (Olschewski et al., 2003).

Erst eine Verletzung in Kombination einer Radiotherapie erzeugt diesen Effekt. Tatsächlich liegen an den mittleren und kleinen Gefäßen bei 75% der bestrahlten Tiere Strahlenschäden vor. Diese Gefäßveränderungen führen zum Austritt von Plasma ins Gewebe, welches wiederum eine Fibrose fördert (Büttner, 2001).

Eine strahlenbedingte Fibrose entsteht je nach Typ des bestrahlten Gewebes nach Monaten oder Jahren aufgrund verschiedener Vorgänge. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch die Bestrahlung Zytokine und Wachstumsfaktoren hochreguliert werden, wodurch wiederum Fibroblasten und Entzündungszellen aktiviert werden und die Kollagensynthese gesteigert wird. Eine chronische Entzündung und der mikrovaskuläre Schaden fördern dieses Phänomen (Denham and Hauer-Jensen, 2002). TGF- β scheint in diesem Zusammenhang ein wichtiges Zytokin zu sein, auch bei der Bestrahlung von Normalgewebe (Rodemann and Bamberg, 1995).

Hauptakteure der Fibrose sind die postmitotischen Fibrozyten bzw. die Myofibroblasten. Die bestrahlten Fibrozyten produzieren vermehrt und defektes Kollagen. Die bestrahlten Zellpopulationen der Fibroblasten, welche die Bestrahlung überlebt haben, könne je nach Potential nach kurzer Zeit viel ECM produzieren. Dies ist ein möglicher Grund für die verspäteten Restenosen. Würde

man in eine bestrahlte Wunde unbestrahlte Fibroblasten setzten, könnte die Wundheilung normal verlaufen (Dormand, 2005, Seegenschmiedt et al., 2000, Trott and Kamprad, 1999).

Die Strahlenfibrose ist eine limitierende Komplikation der Bestrahlung, die an sich auch zu einer Striktur führen kann.

5.4. Diskussion der Radiotherapie von Normalgewebe

Die Fragestellung in diesem Zusammenhang lautet, wie viel an Gesamtdosis einer Strahlentherapie toleriert das Gewebe der Urethra ohne dass es zu Nebenwirkungen kommt. Die Strahlentoleranz der Urethra wird bei über 80 Gy angenommen (Kröpfl et al., 2004).

Im Teilprojekt des Gallengangs wurde nicht stenosiertes, aber bestrahltes Gewebe im Bezug auf einen möglichen Strahlenschaden untersucht. Zwei histologische Präparate (Bestrahlt und im Stenosebereich, Bestrahlt und außerhalb des Stenosebereichs) wurden dem gleichen Tier an zwei verschiedenen Positionen entnommen. Die Ergebnisse zeigen, dass das Ausmaß des Strahlenschadens im Normalgewebe des Gallengangs ähnlich ist wie im bestrahlten, stenosierten Bereich (Otto, 2011).

In diesem Projekt wurde diese Untersuchung des Einflusses der Strahlentherapie auf das Normalgewebe der Urethra nicht an den gleichen Tieren durchgeführt. Die Radiotherapie wurde an 3 weiteren, unbehandelten Tieren untersucht. Diese Veränderungen, welche als Folge der Bestrahlung entstehen, sind bei den Tieren der 60 Gy Gruppe stärker ausgeprägt, als bei einem Tier mit einem 15-Gy-Katheter. Die Strahlenfibrose wie bereits erwähnt ist eine Nebenwirkung der Strahlentherapie. Durch eine Strahlenexposition kann eine entzündliche Reaktion des Gewebes mit einer daraus folgenden fibrotischen Reaktion des Gewebes folgen. Dieser komplexe Vorgang wird bereits bei der Diskussion der Fibrosegrade, Entzündungsparameter und der α -SMA Menge ausführlich behandelt. Hier greift der gleiche Mechanismus.

Diese Nebenwirkung der Strahlentherapie muss durch eine folgende Dosisfindungsstudie reduziert werden. Eine zusätzliche Narbenbildung bei der Behandlung einer Narbe erscheint offensichtlich kontraindiziert.

5.5. Diskussion der LDR-Brachytherapie zur Therapie von urethralen Strikturen

Die LDR-Brachytherapie wird in diesem Versuch mit 2 verschiedenen Dosen durchgeführt. Bei der Auswahl der verwendeten Dosen für diese Pilotprojekt hat man sich an die Standarddosen aus der koronaren Brachytherapie von ca. 20 Gy angelehnt (Raizner et al., 2000, Baumgart, 2002). Die 30-Gy-Dosis wird gewählt, um die maximal effektive Dosis bzw. die Grenze zur toxischen Dosis zu untersuchen.

In der koronaren Brachytherapie werden Gamma- und Betastrahler eingesetzt. Es gibt keine direkten Vergleichstudien der verschiedenen Strahler. Die Wirksamkeit der Betastrahler zur Verhinderung der Restenosierung an koronaren Gefäßen ist in einigen Studien belegt werden (Baumgart, 2002). In der PREVENT-Studie, der INHIBIT-Studie konnten mit einer Phosphor-32 Quelle bei 16 bis 25 Gy eine Reduktion der koronaren Restenoserate im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt werden (Baumgart, 2002). Auch mit einem Betastrahler (Yttrium-90) ab 18 Gy konnten diese Ergebnisse bestätigt werden (Verin et al., 2001).

In vielen Arbeiten zur Restenoseprohylaxe an koronaren Gefäßen ist nur die Aktivität der radioaktive Stents in Curie angegeben. Entscheidend ist aber die Dosis im Zielvolumen. Diese hängt neben der Aktivität des Implantats auch von dessen Geometrie, der Verweildauer, sowie dem Abstand zum Zielvolumen ab. Zum Vergleich ergibt sich für eine 3 cm lange Folie in unserem Projekt eine Aktivität von 850 kBq für den 15-Gy-Katheter. Rechnet man Becquerel in die veraltete Einheit Curie um, so ergibt sich $(0,85 \cdot 1,13 \cdot 10^6 \cdot 2,7 \cdot 10^{-11})$ eine Aktivität von 2,30 μCi .

In Tierversuchen gibt es verschiedene Ergebnisse der Bestrahlung. Tyler et al. beschreiben bei 3,6 bis 14,4 μCi einen adversen Effekt der Bestrahlung mit Phosphor-32 nach 15 Wochen an kaninen Koronargefäßen (Taylor et al., 1999). Carter et al. beschreiben ebenfalls bei einem Phosphor-32 Strahler eine verstärkte neointimale Proliferation bei 1,0 μCi , allerdings bei 23,0 und 0,5 μCi eine Reduktion der Neointima an Koronargefäßen des Schweins (Carter et al., 1996).

Hehrlein et al. können nach einer experimentellen Angioplastik mit einem Stent der Aktivität von 13 μCi die Intimaproliferation an der *Arteria iliaca* von Kaninchen und die Proliferation von glatten Muskelzellen sowie die neointimale

Hyperplasie senken (Hehrlein et al., 1995).

Phosphor-32 wurde neben anderen Radionukleiden in der Therapie der koronaren Stenose eingesetzt, bis zunehmend Probleme mit dem sogenannten „Candy Wrapper Effekt“ auftraten (steiler Dosisabfall am Ende des Stents führte zur Hyperproliferation). Die radioaktiven Stents sind durch „drug-eluting stents“ ersetzt worden (Baumgart, 2002, Albiero et al., 2000). Man kann sagen, dass eine Brachytherapie in Kombination mit der chronischen mechanischen Belastung zu einer Gewebeproliferation führen kann (Van der Giessen et al., 2001, Voisard et al., 2006). Da man aber um das Problem des „Edge Effects“ weiß, sollte man die Verletzung durch z.B. die Ballonierung so gering wie möglich halten und vor allem den eingesetzten Stent länger, d.h. über die Verletzung hinaus platzieren (Serruys and Kay, 2000).

Als Applikator der radioaktiven Quelle dient ein Blasenkatheter, welcher nach einer Urethrotomia interna routinemäßig eingelegt wird. Allerdings ist die Einlagezeit des Harnkatheters in vielen Fällen postoperativ weniger als eine Woche. Die Gesamtdosis von 15 Gy bzw. 30 Gy wird innerhalb dieser Woche appliziert (0,09 Gy/h bzw. 0,18 Gy/h). Damit möchte man gezielt in die akute Phase der Wundheilung eingreifen. Die Proliferationsphase der Wundheilung geht allerdings über die ersten Woche hinaus (Velnar et al., 2009). In einer ähnlich angelegten Studie am Gallengangsstrikturmodell des Schweins wurden anstatt 30 Gy in einer Woche 45 Gy in drei Wochen appliziert. Die Ergebnisse dieser Studie sind ähnlich den hier vorgestellten Ergebnissen (Otto, 2011). Die Gesamtdosis scheint daher eine nicht entscheidende Rolle zu spielen. Die Dosisrate pro Zeit in beiden Versuchen ist innerhalb der ersten Woche gleich. Die länger andauernde Radiotherapie für 3 Wochen scheint einen ähnlichen Einfluss auf die Wundheilung zu haben, allerdings können im Projekt der Gastroenterologie vermehrt Strahlenschäden nachgewiesen werden (Otto, 2011). Zum anderen muss man anmerken, dass verschiedene Organe unterschiedlich auf eine Strahlentherapie reagieren. Die Strahlentoleranz eines Gewebes ist abhängig von der Anordnung des Gewebes und der Zahl der sich teilenden Zellen (Sauer, 2003). Daher kann man diese beiden Studien zur LDR-Brachytherapie nicht unmittelbar miteinander vergleichen.

Vielversprechende Ergebnisse wurden bis dato in der Behandlung der Urethrastrikturen nur in Kombination mit einer HDR-Brachytherapie beobachtet

(Sun et al., 2001, Kröpfl et al., 2004, Shin et al., 2006). Kröpfl et al. bestrahlen mit einer Gesamtdosis von 12 - 16 Gy in 1 - 4 Faktionen (Kröpfl et al., 2004).

Die Target-Zellen einer Radiotherapie bestimmen durch ihre Anzahl, ihre Proliferationskinetik und ihre Strahlenempfindlichkeit den Erfolg der Strahlentherapie (Sauer, 2003). Je höher die applizierte Dosis, desto mehr Zellen sterben ab (Sauer, 2003). Aus einer Bestrahlung mit 15 bis 20 Gy in Tierexperimenten an Gefäßen konnten 99,9% der Zellen abgetötet werden (Baumgart, 2002). Ein Effekt, der bei der Bestrahlung von Stenosen zu sehen ist, ist die dosisabhängige Verzögerung in Bezug auf das Wiederauftreten der Stenose. Hierbei kommt es auf das Potential der Zellen an, die die Bestrahlung überlebt haben (Seegenschmiedt et al., 2000).

Untersuchungen am Gewebe der Urethra liegen hier nicht vor. Zu Therapiebeginn liegt bereits eine 4 Wochen alte Narbe vor, in die erneut eine Verletzung gesetzt wird.

Eine LDR-Brachytherapie (bis zu 1 Gy/h) wird als protrahierte Bestrahlung bezeichnet. Die Therapie wird in kleinen Dosen verabreicht. So kann ein langsam teilendes Gewebe effektiver behandelt werden. Je höher die Dosis desto mehr Zellen sterben ab. Dies ist auch abhängig vom Zellzyklus. In der G2 - und der M-Phase des Zellzyklus sind Zellen strahlensensibel. In der G1-Phase strahlenresistent (Sauer, 2003). Die fraktionierte Therapie braucht insgesamt eine höhere Gesamtdosis, um den gleichen Strahleneffekt zu erzielen (Sauer, 2003). Daher sind die Gesamtdosen der LDR und der HDR-Brachytherapie nicht einfach vergleichbar.

Die Dosis-Rate einer Radiotherapie ist ein wichtiger Faktor. Der biologische Effekt minimiert sich, wenn die Dosis erniedrigt und die Zeit verlängert wird, da immer mehr sublethale Schäden produziert werden (Perez et al., 2006). Die Bestrahlung zielt auf den Zellzyklus der bestrahlten Zellen ab. Wenn bei einer LDR-Brachytherapie die Dosis gesenkt wird, kann sich die Zahl der abgetöteten Zellen sogar noch erhöhen. Durch eine Erniedrigung der Dosisrate werden die Zellen in die G2-Phase (Radiosensitive Phase) gebracht. Werden höhere Dosen verwendet, arretieren die bestrahlten Zellen in ihrem gerade befindlichen Zellstadium. Senkt man die Bestrahlungsdosis noch weiter, bleiben die Zellen unbeeinflusst in ihrem Zellzyklus (Inverse Dose-Rate Effect) (Perez et al., 2006).

Dosisleistungen unter 0,1 Gy/h sind für die Tumorbestrahlung bei schnell wachsendem Gewebe obsolet (Lohr and Wenz, 2007). Die hier verwendeten Dosen liegen noch weit darunter. Ob die in der vorliegenden Studie angewendete LDR-Brachytherapie mit dieser Dosisleistung von 0,09 Gy/h bzw. 0,018 Gy/h für die Therapie der Harnröhrenstriktur die richtige Methode der Radiotherapie ist, kann nicht belegt werden. Sinn hinter der Anwendung dieser Therapieform ist die protrahierte Strahlung mit Hilfe der CLDR (Continuous Low Dose Brachytherapy) über die erste Woche der Wundheilung zu verabreichen. Der Gesamtdosisbereich wird in Anlehnung an die koronaren Stents, bzw. die Dosisbereiche aus der Bestrahlung der benignen Erkrankungen, gewählt. Bisher gibt es keine Studien zur Rezidivprophylaxe an der Urethra. Innerhalb dieser Studie konnte die therapeutische Dosis für eine LDR-Brachytherapie nicht ermittelt werden. Die Ergebnisse des 15-Gy-Katheters scheinen eine gute Tendenz zu haben, allerdings ist die Fallzahl zu gering um eine deutlichere Aussage über die Effektivität dieser Therapieform zu treffen.

5.6. Diskussion des Target der Bestrahlung

Die Berechnung des Zielvolumens ist wichtig für die exakte Positionierung der Katheter. In 1 mm Gewebetiefe werden innerhalb der Einlagezeit eine Gesamtdosis von 15 Gy und 30 Gy abgegeben. Die entspricht dem Zielvolumen bei der Berechnung der zentrierten koronaren Stents in der Humanmedizin (Baumgart, 2002). Die mittlere Dosis der Brachytherapie wird dort mit 12 bis 18 Gy in 2 mm Tiefe postuliert (Dietz et al., 2001). In den histologischen Präparaten liegt das Zielvolumen der Bestrahlung bereits am Übergang von der Lamina propria (*Tunica mucosa*) zur zirkulären Muskelschicht (*Tunica muscularis*). Die reaktiven Veränderungen gehen hier und in anderen Studien von der *Lamina propria* aus (Singh and Blandy, 1976). Die Kontaktdosis des radioaktiven Katheters an der Oberfläche liegt bei 70 Gy (Assmann 2011, persönliche Mitteilung).

6. Schlussfolgerung und Ausblick

Das „BetaMod-Projekt“ ist ein Pilotprojekt zur LDR-Brachytherapie im Sinne einer Rezidivprophylaxe bei urethralen Strikturen. Ziel dieser Arbeit ist es, eine erste Orientierungsstudie auf diesem Gebiet durchzuführen. Der Einsatz und das Handling der neu entwickelten Phosphor-32-haltigen Implanate verlaufen ohne

Komplikationen. Die Dichtigkeit der Implantate sollte noch optimiert werden.

Der Therapieerfolg der 15-Gy-Gruppe erscheint vielversprechend. In dieser Gruppe entwickeln die meisten Tiere kein Rezidiv. Zudem lässt sich durch die vorliegende Studie belegen, dass eine 30-Gy-Dosis oberhalb des therapeutischen Bereichs liegt (Entzündung ↑, Myofibroblasten ↑, Fibrose ↑). Im Rahmen dieser Studie ist es nicht geglückt, die Myofibroblasten durch die Bestrahlung zu reduzieren. Die 15-Gy-Gruppe und 30-Gy-Gruppe zeigen mehr Myofibroblasten als die Kontrolltiere. Inwieweit es durch die vorhandenen Myofibroblasten und deren Kollagenbildung zu einer erneuten Restriktur in diesem speziellen Fall kommt, müssen Langzeitbeobachtungen zeigen. Grundsätzlich kann man davon ausgehen, dass die effektive Dosis näher im Bereich des 15-Gy-Implantats, als im Bereich des 30-Gy-Implantats zu suchen ist.

Für die klinische Anwendung stellen die lokalen und chronischen Nebenwirkungen der Strahlentherapie eine Herausforderung an weiterführende klinische Studien dar. Der Nutzen der Strahlentherapie für den Patienten sollte höher sein, als die damit verbundenen Nebenwirkungen. Problematischerweise ist eine Nebenwirkungen der Bestrahlung eine erneute Strikturbildung.

Der Einsatz dieser neu entwickelten Implantate soll am Patienten bei rezidivierenden Blasenhalssengen nach transurethraler Prostataresektion oder Anastomosenengen (nach Prostatektomie) erfolgen, da es für dieses Patientenkontinenzrisiko als *ultima ratio* nur einen artifiziellen Sphinkter oder offene chirurgische Techniken zur Beseitigung der Strikturen mit hohem Inkontinenzrisiko gibt. Ein Vorteil der Katheter ist es, dass die Patienten ambulant versorgt werden können. Es entsteht somit kein zusätzlicher zeitlicher und finanzieller Aufwand für den Patienten und den Arzt.

Der Antrag auf eine klinische Studie in der Klinik und Poliklinik der Urologie (LMU München) wird gestellt. Da es bis zum heutigen Zeitpunkt keine erfolgversprechende Methode zur Strikturrezidivprophylaxe gibt, müssen neue innovative Therapieverfahren entwickelt werden, um den Patienten ein chronisches Leiden zu ersparen und eine dauerhafte Verbesserung der Lebensqualität zu ermöglichen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

„Wundheilungsmodulation durch lokal integrierte Betastrahler am Harnröhrenstrikturmodell des Kaninchens“

Harnröhrenstrikturen sind Erkrankungen, die im fortgeschrittenen Stadium häufig rezidivieren. Eine erfolgversprechende Therapie, vor allem bei bereits eingetretenen Rezidiven ist, abgesehen von der offenen Harnröhrenrekonstruktion, nicht bekannt. In der vorliegenden tierexperimentellen Orientierungsstudie wird der Einfluss von lokal applizierter β -Strahlung im Sinne einer LDR- Brachytherapie auf die Wundheilung untersucht. Das Ziel dieser Studie ist es, zum einen die klinische Verträglichkeit dieses neuen radioaktiven Implantats zu untersuchen und zum anderen ein Strikturrezidiv durch den lokal integrierten Betastrahler nach endoskopischer Schlitzung zu verhindern. Für die Durchführung einer LDR-Brachytherapie an der Harnröhre wird ein Applikator entwickelt, bestehend aus einer neuartigen ^{32}P -haltigen Folie, die auf den handelsüblichen Blasenkatheter in einem definierten Bereich fixiert wird. Dosimetrisch ist es das Ziel in 1 mm Gewebetiefe innerhalb der einwöchigen Kathetereinlagezeit die entsprechende Gesamtdosis von 0, 15 oder 30 Gy zu applizieren. Für diese Untersuchungen wird ein neues standardisiertes und reproduzierbares Harnröhrenstrikturmodell im Versuchstier etabliert. Zur Strikturinduktion wird am Tag 0 bei 18 männlichen Kaninchen (New Zealand White Rabbits) mit einem Diodenlaser (Wellenlänge $\lambda=1470\text{nm}$) ein zirkulärer Schaden in der Pars prostatica urethrae gesetzt. Am Tag 28 erfolgte die Evaluation des Strikturgrades (Zystourethrographie, Endoskopie). Nach der Urethrotomia interna erfolgt randomisiert, kontrolliert und verblindet die Einlage des Spezialkatheters: 3 Gruppen je 6 Tiere, Kontrolle (0 Gy) bzw. LDR-Dosis 15 und 30 Gy. Nach einem Intervall von 7 Tagen werden die Katheter entfernt. Am Tag 63 wird der Strikturgrad abschließend beurteilt (Zystourethrographie, Endoskopie) und die Exstirpation des Gewebes mit anschließender histologischer Aufarbeitung (Färbungen: HE, EvG, α -SMA) durchgeführt. Die histologischen Präparate werden auf Strahlenschäden an den Gefäßen, auf den Fibrosegrad und Entzündungsparameter im Urothel und im Bindegewebe untersucht. Zusätzlich werden metrische Daten des Lumens und des Bindegewebes erhoben.

Am Tag 28 haben 83,3% der Tiere eine hochgradige Stenose mit mehr als 90% Lumeneinengung entwickelt. Am Tag 63 konnte durch die Kombination der Urethrotomia interna und der LDR-Brachytherapie kann bei der 15-Gy-Gruppe eine Rezidivfreiheit von 66,7% erzielt werden, bei der 0-Gy-Gruppe und der 30-Gy-Gruppe dagegen eine Rezidivfreiheit von nur 33,3%. Die Tiere, die das 15-Gy-Implantat erhalten, zeigen im Vergleich zur 30-Gy-Gruppe weniger entzündliche Veränderungen des Urothels und des Bindegewebes, einen geringeren Stenosegrad am Tag 63 und weniger fibrotische Reaktionen. Die 15-Gy-Gruppe und die Kontrollgruppe haben vergleichbare fibrotische Veränderungen im Bindegewebe. Strahlenschäden an den Gefäßen sind bei beiden radioaktiven Gruppen zu 50% erkennen. Die Myofibroblastenzahl konnte durch die Radiotherapie nicht reduziert werden. Trotz des tendenziell positiven Einflusses des 15-Gy Implantats auf die Wundheilung sollte eine Studie mit längerer Nachbeobachtungszeit und einer größeren Fallzahl folgen.

Zusammenfassend kann man sagen, dass innerhalb der vorliegenden in-vivo Studie zur endoluminalen LDR-Brachytherapie in Kombination mit einer Urethrotomia interna mehrere Ziele verwirklicht werden konnten. Zum einen wird ein neues Applikatorsystem für eine LDR-Brachytherapie an der Urethra, eine ³²P-haltige Folie, erfolgreich getestet, zum anderen wird zusätzlich ein reproduzierbares Tiermodell für Strikturen der prostatistischen Harnröhre entwickelt und gleichzeitig werden basiswissenschaftliche Untersuchungen zur Strahlentherapie von benignen Erkrankungen (Urethrastrikturen) durchgeführt. Auch wenn das 15-Gy-Implantat ermutigende Ergebnisse liefert, so sollten weitere Dosisfindungsstudien angeschlossen werden, um eine effektive Dosis der LDR-Brachytherapie für den klinischen Einsatz am Menschen zu finden.

VII. SUMMARY

„Effects on the wound healing induced by β -Particle-Emitting stent assisted LDR-Brachytherapy for the prevention of urethral restenosis – A pilot study in Rabbits”

Strictures of the urethra are a common problem with a high restenosis rate. This present study investigates the influence of beta irradiation on the delay of wound healing by a new locally integrated ^{32}P -catheter after visual internal urethrotomy (DVIU). The restenosis rate after DVIU in combination with irradiation and the clinical tolerance of the new implantat has been evaluated. For this purposes an innovative application system was designed for the LDR-Brachytherapy consisting of a special ^{32}P -foil adapted to a common urethral catheter was developed. Immediately after DVIU the special catheter is placed in the urethra covering the wound with the irradiation area. During one week of irradiation a beta-irradiation dose of 0, 15 or 30 Gy should be delivered in 1 mm tissue depth of the urethral wall. The in-vivo animal study consists of laser (wavelength $\lambda = 1470\text{nm}$) induced circumferential urethral stricture in the posterior urethra in 18 New Zealand White male rabbits were included. 4 weeks afterwards the grade of stricture was evaluated with videourethroscopy and cystourethrography followed by DVIU. Thereafter the special catheter tube (0, 15, 30 Gy) is inserted randomized, controlled and blinded in 3 groups ($n = 6$). On day 35 the catheter tube was removed. On day 63, the end of the in-vivo study, the development of the stricture after therapy was evaluated again using videourethroscopy and retrograde cystourethrography. Then all animals were sacrificed, the urethra was harvested and prepared for histological staining (HE, EvG, α -SMA). The histopathological examination included evaluation of side effects of irradiation, fibrosis, urethral inflammation and measuring the urethral lumen and the adventitial connective tissue. All histological analysis was performed by personnel blinded to the catheter characteristics (radioactive or control).

On day 28 laser induced stricture induction showed high grade strictures of more than 90% lumen narrowing in 83,3% of the animals. Treatment of the stricture plus LDR resulted in best clinical outcome with a restenosis rate of only 33,3% in the 15-Gy-group. In the other two groups a restenosis rate of 66,7% could be

evaluated. Furthermore the 15-Gy-group showed a mild urethral inflammation and a mild fibrosis in histological examination. There was no difference in the fibrotic reaction of the control group (0 Gy) compared to the 15-Gy-group. Radiation induced side effects (injured vessels) could be observed in 50% of all animals in the irradiated groups (15, 30 Gy). In the irradiated groups more myofibroblasts (α -SMA) were observed than in the control group.

This present study describes a new model of posterior urethral stricture in rabbits and showed the positive influence of beta-irradiation by a new ^{32}P -catheter system on the wound healing process after DVIU. The new implants show a positive effect on the resticture rate within the 15-Gy-catheter group.

In conclusion it can be said, that in this present in-vivo study a new innovative application system for the LDR-Brachytherapy consisting of a special ^{32}P -foil was trailed successfully, furthermore we investigated a new resticture model for the prostatic part of the urethra and we did a basic step in the research process for radiotherapy for benign proliferative diseases. Further clinical investigations with longer follow-up times have to follow to find the effective dose for the prevention of urethral stricture.

VIII. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
Bq	Becquerel
Charr.	Charrière
CUG	Zystourethrogramm
DVIU	Direct vision internal urethrotomy
et al.	und andere (et alii)
Gy	Gray
i.v.	intravenös
i.m.	intramuskulär
J	Joule
KGW	Kilogramm Körpergewicht
KM	Kontrastmittel
kPa	Kilopascal
l/l	Latero-lateral
LDR	Low-Dose-Rate
M.	Musculus
MHz	Megahertz
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
n	Anzahl der Proben
NaCl	Natrium-Chlorid-Lösung
n.s.	nicht signifikant
OCT	optische Kohärenztomographie
OP	Operation

per os	oral
s.c.	subkutan
SMA	Smooth-Muscle-Aktin
TGF- β	transforming growth factor
TNF- α	Tumor Nekrose Faktor
V.v.	Venae
v/d	Ventro-dorsal
μ Ci	Mikrocurie
μ l	Mikroliter
μ m	Mikrometer
μ M	Mikromol

IX. ANHANG

- **Hämatoxylin-Eosin Färbeprotokoll**

Für die Entparaffinierung werden die Präparate in 250 ml Roti® -Histol der Firma Carl Roth GmbH&Co. KG Karlsruhe, für 2 x 3 min gegeben. Anschließend werden die Schnitte zur Überführung in die wässrige Phase in eine absteigende Alkoholreihe gegeben: 250 ml Ethanol 100% (3 min), 250 ml Ethanol 100% (3 min), 96% Ethanol (3 min), 70% Ethanol (3 min). Der vergällte Ethanol stammt aus der Apotheke des Klinikums der Innenstadt, LMU München. Der nächste Schritt ist das Färben der Schnitte in je 250 ml Hämalaun-Lösung nach Mayer der Apotheke der Innenstadt, LMU München (3x3 min). Danach werden die Präparate 2 x 3 min in fließendes Leitungswasser gegeben, gebläut und anschließend in 250 ml Eosin-Y-Lösung der Firma Sigma-Aldrich Chemie GmbH 89555 Steinheim für weitere 3 min gefärbt. Das Ganze wird mit Aqua dest. für 3 min gespült. Daran schließt sich für 3 x 3 min 250 ml 100% Alkohol an und die Schnitte werden zum Schluß 2 x 3 min in Roti® - Histol der Firma Carl Roth GmbH&Co.KG, Karlsruhe gegeben. Das Eindeckmedium für die Schnitte ist DPX Mountant der Firma Fluka/Sigma-Aldrich Chemie GmbH, 89555 Steinheim.

- **Elastica van Gieson Färbeprotokoll**

Bei der Färbung der Schnitte nach „Elastica van Gieson“ werden zuerst, wie bei der HE-Färbung, die Schritte bis zur absteigenden Alkoholreihe durchgeführt. Anschließend werden die Präparate 20 min in 200 ml Resorcin-Fuchsin nach Weigert der Firma Carl Roth GmbH&Co.KG, Karlsruhe gefärbt. Als nächstes werden die Schnitte in 200 ml HCl-Alkohol (Ethanol 70% + 1Tr. HCl (Alkohol s. o. / HCl Merck KGaA, 69271 Darmstadt) für 10 sec gehalten und danach in 70% Alkohol für weitere 10 sec. Dann in 200 ml Eisenhämatoxylin (Lösung A+B) der Firma Carl Roth GmbH&Co. KG, Karlsruhe für 6 min überführt. Ein Bad in 200 ml Aqua dest. für 10 sec spült das überschüssige Eisenhämatoxylin ab. Daraufhin kommen die Objektträger mit den Gewebeschnitten wieder in 200 ml HCl Alkohol (Ethanol 70% + 1 Tropfen HCl (Alkohol s. o. / HCl Merck KGaA 69271 Darmstadt) für 10 sec und werden mit Aqua dest. gespült. 13 min werden

die Präparate unter fließendem Leitungswasser gebläut und danach wieder in Aqua dest. gespült. Der nächste Färbeschritt ist das van Gieson Pirkofuchsin der Firma Morphisto GmbH, 60314 Frankfurt am Main für 6 min. Zum Abschluss folgt eine aufsteigende Alkoholreihe mit einmalig 96% Alkohol und zweimalig 100% Alkohol (s.o) für 5 min. 2 x 10 min liegen die Schnitte in Roti®-Histol der Firma Carl Roth GmbH&Co.KG, Karlsruhe und werden dann mit dem Eindeckmedium, wie die HE-Präparate, dem DPX Mountant der Firma Fluka/Sigma-Aldrich Chemie GmbH, 89555 Steinheim, eingedeckt. Zum Trocknen benötigen die fertigen Präparate 24 h.

- **α -SMA Färbeprotokoll**

Primär-AK: Actin für Kaninchengewebe; Firma: Millipore, Cat. No.: CBL171
Detektionssystem: ImmPRESS Reagent Kit Anti-MOUSE Ig (Fa.Vector, Cat. No. MP-7402)

Nach der Entparaffinierung wird das Gewebe mit einem Enzym (siehe Kit) inkubiert. Danach 2 x 5 min in TRIS-Puffer (pH 7,5) gespült. Der nächste Schritt ist die Blockierung der endogenen Peroxidase (10 min, 7,5% wässriges Wasserstoffperoxid bei RT+10 min fließend wässern). Anschließend 2 x 5 min spülen in TRIS-Puffer. Dann für 20 min blocking serum (Kit siehe oben) dazugeben und den Überstand abkippen (Primär-AK Actin 1.300, Inkubationszeit: 60 min RT) und wieder 2 x 5 min in TRIS-Puffer spülen. Als nächsten Schritt werden die Schnitte mit 30 min Anti-Mouse Ig (Kit siehe oben) inkubiert und anschließend 2 x 5 min in TRIS-Puffer gespült (Chromogen: 3 min DAB+ (Fa.Dako, Cat.No. K3467) und 10 min unter fließendem Wasser gewässert. Für die Gegenfärbung: 10 sec. Hematoxylin Gill's Formula (Fa.Vector, Cat.No. H-3401) +10 min fließend wässern + Eindecken mit Kaisers Glyceringelatine (Fa. Merck, Cat.No. 1.09242.0100).

X. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1: Anatomie der Harnröhre.....</i>	<i>4</i>
<i>Abbildung 2. Harntrakt eines männlichen Kaninchens</i>	<i>6</i>
<i>Abbildung 3: Fibroblasten-Fibrozyten-System.....</i>	<i>17</i>
<i>Abbildung 4: Interaktion zwischen den Makrophagen/Monozyten und den Myofibroblasten</i>	<i>18</i>
<i>Abbildung 5. Zerfall von P-31 nach Neutronenbeschuss.....</i>	<i>36</i>
<i>Abbildung 6. Abstand Strahlenquelle-Bestrahlungsstelle [mm])</i>	<i>37</i>
<i>Abbildung 7. Studiendesign der „Urethrotomia interna-Gruppe“</i>	<i>45</i>
<i>Abbildung 8: Aufbau des beschichteten Katheters.....</i>	<i>47</i>
<i>Abbildung 9. Radioaktives Implantat auf einem Blasenkatheter</i>	<i>48</i>
<i>Abbildung 10: Strahlenschutzvorrichtungen.....</i>	<i>48</i>
<i>Abbildung 11. linke Abb.: Plexiglashülle und Einführen des Katheters am Tier .</i>	<i>49</i>
<i>Abbildung 12: Querschnitt des Katheters und Lage des Zielvolumens (ZV).....</i>	<i>50</i>
<i>Abbildung 13. Dosisverteilung im Zielvolumen.....</i>	<i>50</i>
<i>Abbildung 14. Strikturinduktion durch Resektion.....</i>	<i>51</i>
<i>Abbildung 15. Positionierung der Laserfaser, zirkuläre Koagulationszone.....</i>	<i>52</i>
<i>Abbildung 16: Lagerung des Versuchstieres</i>	<i>55</i>
<i>Abbildung 17. Röntgenaufnahme mit Kontrastmittel präoperativ</i>	<i>57</i>
<i>Abbildung 18. Colliculus seminalis eines Kaninchenbocks.....</i>	<i>58</i>
<i>Abbildung 19. Strikturinduktion am Tag 0.....</i>	<i>59</i>
<i>Abbildung 20: CUG v/d</i>	<i>59</i>
<i>Abbildung 21. Aufbau des Endoskops.....</i>	<i>60</i>
<i>Abbildung 22. Tag 28: Kontrastmitteldarstellung der Striktur in zwei Ebenen)..</i>	<i>60</i>
<i>Abbildung 23. Tag 28 Endoskopischer Blick auf die Striktur.....</i>	<i>61</i>
<i>Abbildung 24. Abfolge der Urethrotomia interna am Tag 28.....</i>	<i>62</i>
<i>Abbildung 25. CUG am Tag 28 prae und post OP).....</i>	<i>62</i>
<i>Abbildung 26. Kathetereinlage</i>	<i>63</i>
<i>Abbildung 27. Kathetereinlage Tag 28.....</i>	<i>64</i>
<i>Abbildung 28. Fixierung des Katheters am Präputium am Tag 28</i>	<i>65</i>
<i>Abbildung 29: Gewebeauflagerung nach einwöchiger Kathetereinlage.....</i>	<i>66</i>
<i>Abbildung 30: Kontrastmitteldarstellung der Harnröhre am Tag 63.....</i>	<i>67</i>
<i>Abbildung 31: Zuschnitt des Gewebes</i>	<i>68</i>

<i>Abbildung 32: Technik für die Digitalisierung der histologischen Präparate</i>	70
<i>Abbildung 33: Benutzeroberfläche des DatInf® Measure</i>	71
<i>Abbildung 34: Ausmessen des Minimums und des Maximums der Epitheldicke.</i> 71	
<i>Abbildung 35: Ausmessen der Fläche und Umfang des Bindegewebes</i>	72
<i>Abbildung 36: Ausmessen des Minimums und des Maximums des Bindegewebes</i> 72	
<i>Abbildung 37: Ausmessen der Fläche und des Umfangs des Urothels „Außen“.</i> 73	
<i>Abbildung 38: Ausmessen der Fläche und Umfang des Urothels „Innen“</i>	73
<i>Abbildung 39. Anfärben der histologischen Präparate</i>	74
<i>Abbildung 40: Entzündungsgrad des Urothels</i>	75
<i>Abbildung 41: Fibrosegrad (1, 2, 3)</i>	76
<i>Abbildung 42: α-SMA-Grad (1, 2, 3)</i>	76
<i>Abbildung 43: Strahlenschaden an den mittleren und kleinen Gefäßen</i>	77
<i>Abbildung 44: Lokalisation der Strikturposition</i>	78
<i>Abbildung 45: CUG der Urethra (v/d)</i>	78
<i>Abbildung 46: Stenosegrad 1-3 (endoskopische Beurteilung)</i>	79
<i>Abbildung 47: Stenosegrad 1-3 (röntgenologische Beurteilung)</i>	79
<i>Abbildung 48: Nr. 3</i>	84
<i>Abbildung 49: Nr. 3</i>	85
<i>Abbildung 50: Messmethode der Stenoseposition</i>	87
<i>Abbildung 51: Beispiel für die Lokalisation der Stenose eines Versuchstieres im CUG</i>	89
<i>Abbildung 52: Laserschaden an Tag 0 (Schaden nicht zirkulär)</i>	90
<i>Abbildung 53: Entzündliche Veränderungen des Urothels</i>	107
<i>Abbildung 54: Plattenepithelmetaplasie</i>	112
<i>Abbildung 55: Hyperplastische Epithelveränderungen des Urothels</i>	112
<i>Abbildung 56: Subepitheliales Ödem</i>	113
<i>Abbildung 57: Erosion des Urothels, Ulzeration des Urothels</i>	113
<i>Abbildung 58: Fibrotische Veränderungen am Gewebe</i>	116
<i>Abbildung 59. Strahlenschaden</i>	118
<i>Abbildung 60: linke Abbildung: unbehandeltes Gewebe, rechte Abbildung: bestrahltes Tier</i>	125
<i>Abbildung 61: Strahlenschäden an den mittleren und kleinen Gefäßen (60 Gy)</i> 126	
<i>Abbildung 62: Tier ohne Strikturinduktion mit einem 15-Gy-Implantat</i>	126
<i>Abbildung 63: Kontrastmittel verläuft extravasal; rechte Abb.: Nach der Schlitzung</i>	129

<i>Abbildung 64: Veränderung der Katheterposition innerhalb der einwöchigen Einlagezeit.....</i>	<i>130</i>
<i>Abbildung 65: Mittelgradige Fibrose mit Drüsengewebe</i>	<i>133</i>
<i>Abbildung 66: Ausmessen der Dicke des Bindegewebes im DatInf Measure®..</i>	<i>133</i>
<i>Abbildung 67. Vergleich CUG/Endoskopie</i>	<i>134</i>
<i>Abbildung 68: 1: Lokalisation der Stenoseposition.....</i>	<i>136</i>
<i>Abbildung 69: Stenosegrad-Entwicklung.....</i>	<i>140</i>
<i>Abbildung 70: rechte Abb.: Stenosegrad 3, linke Abb.: Stenosegrad 2.....</i>	<i>145</i>

XI. TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Score für die histologische Beurteilung de Fibrosegrad und des Gehalts an α-SMA</i>	74
<i>Tabelle 2: Score für die histologische Beurteilung der entzündlichen Veränderungen</i>	75
<i>Tabelle 3: Einteilung der Stenosegrade (röntgenologisch, endoskopisch)</i>	79
<i>Tabelle 4: Datentabelle der Stenosegrade (E: endoskopisch, R: röntgenologisch)</i>	83
<i>Tabelle 5: Vergleich Stenosegrad Endoskopisch- Röntgenologisch</i>	84
<i>Tabelle 6: Vergleich der Messmethoden des Strikturgrade</i>	86
<i>Tabelle 7: Strikturgradentwicklung am Tag 28</i>	90
<i>Tabelle 8: Stenosegrad (1, 2, 3) am Tag 28 (verblindet dargestellt)</i>	90
<i>Tabelle 9: Stenosegrad (1, 2, 3) am Tag 63 (verblindet dargestellt)</i>	91
<i>Tabelle 10: Stenosegrad-Entwicklung von Tag 28 bis Tag 63</i>	91
<i>Tabelle 11: Stenosegrad-Entwicklung in Abhängigkeit von der Dosis (Gy)</i>	92
<i>Tabelle 12: Mittelwert und Standardabweichung der Epitheldicke Min (μm) innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30)</i>	94
<i>Tabelle 13: Mittelwert und Standardabweichung der Epitheldicke Max (μm) innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30)</i>	95
<i>Tabelle 14: Mittelwert und Standardabweichung der Epitheldicke Min (μm) innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)</i>	96
<i>Tabelle 15: Mittelwert und Standardabweichung der Epitheldicke Max (μm) innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)</i>	97
<i>Tabelle 16: Mittelwert und Standardabweichung des Lumenumfangs (mm) innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30)</i>	98
<i>Tabelle 17: Mittelwert und Standardabweichung der Lumenfläche (mm^2) innerhalb der Dosis-Gruppen</i>	98
<i>Tabelle 18: Mittelwert und Standardabweichung des Lumenumfangs (mm) innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)</i>	99
<i>Tabelle 19: Mittelwert und Standardabweichung der Lumenfläche (mm^2) innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)</i>	100
<i>Tabelle 20: Mittelwert und Standardabweichung der Bindegewebedicke Min (mm) innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30)</i>	101

<i>Tabelle 21: Mittelwert und Standardabweichung der Bindegewebsdicke Max (mm) innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30).....</i>	<i>102</i>
<i>Tabelle 22: Mittelwert und Standardabweichung der Bindegewebedicke Min (mm) innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3).....</i>	<i>103</i>
<i>Tabelle 23: Mittelwert und Standardabweichung der Bindegewebedicke Max (mm) innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3)</i>	<i>104</i>
<i>Tabelle 24: Mittelwert und Standardabweichung der Bindegewebefläche (mm²) innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30)</i>	<i>105</i>
<i>Tabelle 25: Mittelwert und Standardabweichung der Bindegewebefläche(mm²) innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3).....</i>	<i>106</i>
<i>Tabelle 26: Mittelwerte der Entzündung des Urothels innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30).....</i>	<i>108</i>
<i>Tabelle 27: Mittelwert der Entzündung des Urothels innerhalb der Stenosegrad-Gruppen</i>	<i>109</i>
<i>Tabelle 28: Mittelwert der Entzündung im Bindegewebe innerhalb der Dosis-Gruppen</i>	<i>110</i>
<i>Tabelle 29: Mittelwert der Entzündung im Bindegewebe innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3).....</i>	<i>111</i>
<i>Tabelle 30: Mittelwert des α-SMA-Grades innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30).....</i>	<i>114</i>
<i>Tabelle 31: Mittelwert des α-SMA-Färbung innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3).....</i>	<i>115</i>
<i>Tabelle 32: Mittelwert des Fibrosegrades innerhalb der Dosis-Gruppen (0, 15, 30).....</i>	<i>116</i>
<i>Tabelle 33: Mittelwert des Fibrosegrades innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3).....</i>	<i>117</i>
<i>Tabelle 34: Stenosegradentwicklung der „De novo“ Gruppe.....</i>	<i>124</i>

XII. DIAGRAMMVERZEICHNIS

<i>Diagramm 1: Einteilung der Stenosegrade nach dem Umfang des Urothels.....</i>	85
<i>Diagramm 2: Position der Stenose der einzelnen Tiere im Endoskop</i>	88
<i>Diagramm 3: Mittelwerte des Stenosegrade in Abhängigkeit von der Dosis</i>	93
<i>Diagramm 4: Das Boxplot stellt das Minimum der Epitheldicke in Abhängigkeit von der Dosis (Gy) dar.....</i>	94
<i>Diagramm 5: Das Boxplot stellt das Maximum der Epitheldicke in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30 Gy) dar.....</i>	95
<i>Diagramm 6: Das Boxplot stellt das Minimum der Epitheldicke in Abhängigkeit von den Stenosegraden am Tag 63 dar.....</i>	96
<i>Diagramm 7: Das Boxplot stellt das Maximum der Epitheldicke in Abhängigkeit von den Stenosegraden am Tag 63 dar.....</i>	97
<i>Diagramm 8: Das Boxplot stellt den Umfang des Lumens in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30 Gy) dar.....</i>	98
<i>Diagramm 9: Das Boxplot stellt die Fläche des Lumens in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30 Gy) dar.....</i>	99
<i>Diagramm 10: Das Boxplot stellt den Umfang des Urothels in Abhängigkeit von den Stenosegraden dar.....</i>	100
<i>Diagramm 11: Das Boxplot stellt die Urothelfläche in Abhängigkeit von den Stenosegraden dar.....</i>	101
<i>Diagramm 12: Das Boxplot stellt das Minimum der Bindegewebedicke in mm in Abhängigkeit von der Dosis (Gy) dar.</i>	102
<i>Diagramm 13: Das Boxplot stellt das Maximum der Bindegewebedicke in mm in Abhängigkeit von der Dosis (Gy) dar.</i>	103
<i>Diagramm 14: Das Boxplot stellt das Minimum der Bindegewebedicke in mm in Abhängigkeit von Stenosegrad Tag 63.....</i>	104
<i>Diagramm 15: Das Boxplot stellt das Maximum der Bindegewebedicke in mm in Abhängigkeit von Stenosegrad Tag 63.....</i>	105
<i>Diagramm 16: Das Boxplot stellt die Fläche des Bindegewebes in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30 Gy) dar.....</i>	106
<i>Diagramm 17: Das Boxplot stellt die Fläche des Bindegewebes in Abhängigkeit von den Stenosegraden am Tag 63 dar.....</i>	107
<i>Diagramm 18: Entzündung im Epithel in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30</i>	

Gy).....	108
<i>Diagramm 19: Entzündung im Epithel innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3).....</i>	<i>109</i>
<i>Diagramm 20: Entzündung im Bindegewebe in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30 Gy)</i>	<i>110</i>
<i>Diagramm 21: Entzündung im Bindegewebe innerhalb der Stenosegrade (1, 2, 3).....</i>	<i>111</i>
<i>Diagramm 22: α-SMA-Färbung der verschiedenen Dosis-Gruppen (0, 15, 30).....</i>	<i>114</i>
<i>Diagramm 23: α-SMA-Färbung innerhalb der Stenosegrad-Gruppen</i>	<i>115</i>
<i>Diagramm 24: Fibrosegrad in Abhängigkeit von der Dosis (0, 15, 30 Gy).....</i>	<i>117</i>
<i>Diagramm 25: Fibrosegrad innerhalb der Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3).....</i>	<i>118</i>
<i>Diagramm 26: Korrelation zwischen dem Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3) und den Dosis-Gruppen (0, 15, 30)</i>	<i>119</i>
<i>Diagramm 27: Korrelation zwischen dem α-SMA-Grad und den Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3).....</i>	<i>120</i>
<i>Diagramm 28: Korrelation zwischen dem Fibrosegrad und den Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3).....</i>	<i>121</i>
<i>Diagramm 29: Korrelation zwischen dem Umfang des Urothels und den Stenosegrad-Gruppen (1, 2, 3).....</i>	<i>121</i>
<i>Diagramm 30: Korrelation zwischen dem Urothelumfang und den Dosis-Gruppen (0, 15, 30).....</i>	<i>122</i>
<i>Diagramm 31: Korrelation der Entzündung im Bindegewebe und den Dosis-Gruppen (0, 15, 30).....</i>	<i>123</i>
<i>Diagramm 32: Korrelation der α-SMA-Färbung und den Dosis-Gruppen (0, 15, 30).....</i>	<i>123</i>

XIII. LITERATURVERZEICHNIS

ALBERS, P., FICHTNER, J., BRUHL, P. & MULLER, S. C. 1996. Long-term results of internal urethrotomy. *J Urol*, 156, 1611-4.

ALBIERO, R., ADAMIAN, M., KOBAYASHI, N., AMATO, A., VAGHETTI, M., DI MARIO, C. & COLOMBO, A. 2000. Short- and intermediate-term results of (32)P radioactive beta-emitting stent implantation in patients with coronary artery disease: The Milan Dose-Response Study. *Circulation*, 101, 18-26.

ANDERSEN, H. L., DUCH, B. U., GREGERSEN, H., NIELSEN, J. B. & ORSKOV, H. 2003a. The effect of the somatostatin analogue lanreotide on the prevention of urethral strictures in a rabbit model. *Urol Res*, 31, 25-31.

ANDERSEN, H. L., DUCH, B. U., NIELSEN, J. B., JOERGENSEN, B. & LEDET, T. 2003b. An experimental model for stricture studies in the anterior urethra of the male rabbit. *Urol Res*, 31, 363-7.

ANDRICH, D. E. & MUNDY, A. R. 2000. Urethral strictures and their surgical treatment. *BJU Int*, 86, 571-80.

ANIDJAR, M., MONGIAT-ARTUS, P., BROULAND, J. P., MERIA, P., TEILLAC, P., LE DUC, A., BERTHON, P. & CUSSENOT, O. 1999. Thermal radiofrequency induced porcine ureteral stricture: a convenient endourologic model. *J Urol*, 161, 298-303.

ANTONAKOPOULOS, G. N., HICKS, R. M., HAMILTON, E. & BERRY, R. J. 1982. Early and late morphological changes (including carcinoma of the urothelium) induced by irradiation of the rat urinary bladder. *Br J Cancer*, 46, 403-16.

AYYILDIZ, A., NUHOGLU, B., GULERKAYA, B., CAYDERE, M., USTUN, H., GERMIYANOGLU, C. & EROL, D. 2004. Effect of intraurethral Mitomycin-

C on healing and fibrosis in rats with experimentally induced urethral stricture. *Int J Urol*, 11, 1122-6.

BADER, M. J., TILKI, D., GRATZKE, C., SROKA, R., STIEF, C. G. & REICH, O. 2010. Ho:YAG-laser: treatment of vesicourethral strictures after radical prostatectomy. *World J Urol*, 28, 169-72.

BANDHAUER, K., SCHREITER, F. 1991. *Operative Therapie der Harnröhrenstriktur*, Thieme Verlag.

BARBAGLI, G., PALMINTERI, E., LAZZERI, M. & GUAZZONI, G. 2003. Anterior urethral strictures. *BJU Int*, 92, 497-505.

BASKIN, L. S., CONSTANTINESCU, S. C., HOWARD, P. S., MCANINCH, J. W., EWALT, D. H., DUCKETT, J. W., SNYDER, H. M. & MACARAK, E. J. 1993. Biochemical characterization and quantitation of the collagenous components of urethral stricture tissue. *J Urol*, 150, 642-7.

BAUMGART, D. S., W., NABER, C., KAISER, C. A., MEUSERS, P., QUAST, U., LANGNER, I., FLÜHS, D., STUSCHKE, M., ERBEL, R. 2002. Strahlentherapie der Herzkranzgefäße *Deutsches Ärzteblatt*, 99, A2252-A2256.

BERNTSSON, M., LOWHAGEN, G. B., BERGSTROM, T., DUBICANAC, L., WELINDER-OLSSON, C., ALVENGREN, G. & TUNBACK, P. Viral and bacterial aetiologies of male urethritis: findings of a high prevalence of Epstein-Barr virus. *Int J STD AIDS*, 21, 191-4.

BERTRAND, O. F., LEHNERT, S., MONGRAIN, R. & BOURASSA, M. G. 1999. Early and late effects of radiation treatment for prevention of coronary restenosis: a critical appraisal. *Heart*, 82, 658-62.

BISERTE, J. & NIVET, J. 2006. [Trauma to the anterior urethra: diagnosis and management]. *Ann Urol (Paris)*, 40, 220-32.

- BRANDES, S. B. 2008. *Urethral Reconstructive Surgery*, Humana Press.
- BUMANN, J., SANTO-HOLTJE, L., LOFFLER, H., BAMBERG, M. & RODEMANN, H. P. 1995. Radiation-induced alterations of the proliferation dynamics of human skin fibroblasts after repeated irradiation in the subtherapeutic dose range. *Strahlenther Onkol*, 171, 35-41.
- BURGER, A., LÖFFLER, H., BAMBERG, M. & RODEMANN, H. P. 1998. Molecular and cellular basis of radiation fibrosis. *Int J Radiat Biol*, 73, 401-8.
- BÜTTNER, R. 2001. *Allgemeine Pathologie mit 15 Tabellen*, Stuttgart [u.a.], Schattauer.
- CARTER, A. J., LAIRD, J. R., BAILEY, L. R., HOOPES, T. G., FARB, A., FISCHELL, D. R., FISCHELL, R. E., FISCHELL, T. A. & VIRMANI, R. 1996. Effects of endovascular radiation from a beta-particle-emitting stent in a porcine coronary restenosis model. A dose-response study. *Circulation*, 94, 2364-8.
- CAVALCANTI, A. G., COSTA, W. S., BASKIN, L. S., MCANINCH, J. A. & SAMPAIO, F. J. 2007. A morphometric analysis of bulbar urethral strictures. *BJU Int*, 100, 397-402.
- CHAMBERS, R. M. & BAITERA, B. 1977. The anatomy of the urethral stricture. *Br J Urol*, 49, 545-51.
- DA-SILVA, E. A., SAMPAIO, F. J., DORNAS, M. C., DAMIAO, R. & CARDOSO, L. E. 2002. Extracellular matrix changes in urethral stricture disease. *J Urol*, 168, 805-7.
- DENHAM, J. W. & HAUER-JENSEN, M. 2002. The radiotherapeutic injury--a complex 'wound'. *Radiother Oncol*, 63, 129-45.
- DESMOULIERE, A., CHAPONNIER, C. & GABBIANI, G. 2005. Tissue repair,

contraction, and the myofibroblast. *Wound Repair Regen*, 13, 7-12.

DIETZ, R., SILBER, S., BAUMGART, D., HEHRLEIN, C. & TEBBE, U. 2001. [Position paper on intracoronary brachytherapy]. *Z Kardiol*, 90, 875-80.

DORMAND, E.-L., BANWELL, P. E., GOODACRE, T. EE. 2005. Radiotherapy and wound healing. *International Wound Journal*, 2, 112-127.

DUNDAR, M., KOCAK, I., ERKUS, M. & EROL, H. 2002. The effect of diltiazem on the healing of traumatic urethral inflammation. *Urol Int*, 68, 268-72.

ELGAMMAL, M. A. 2009. Straddle injuries to the bulbar urethra: management and outcome in 53 patients. *Int Braz J Urol*, 35, 450-8.

ERHARDT, W. 2004. *Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier sowie bei Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen ; 128 Tabellen*, Stuttgart [u.a.], Schattauer.

FENTON, A. S., MOREY, A. F., AVILES, R. & GARCIA, C. R. 2005. Anterior urethral strictures: etiology and characteristics. *Urology*, 65, 1055-8.

FREYSCHMIDT, J. 2004. *Handbuch diagnostische Radiologie*, Berlin Heidelberg, Springer Verlag.

GABRISCH, K. 2007. *Krankheiten der Heimtiere*, Hannover, Schlüter.

GLENISTER, T. W. 1962. The development of the utricle and of the so-called 'middle' or 'median' lobe of the human prostate. *J Anat*, 96, 443-55.

GOZZI, C., TRITSCHLER, S., BASTIAN, P. J. & STIEF, C. G. 2008. [Management of urethral strictures]. *Urologe A*, 47, 1615-22.

GRUPEN, C. 2003. *Grundkurs Strahlenschutz*

Praxiswissen für den Umgang mit radioaktiven Stoffen ; mit 24 Tabellen, vielen Übungsaufgaben mit Lösungen und einer Übungsklausur, Berlin [u.a.], Springer.

GUAZZIERI, S., BERTOLDIN, R., D'INCA, G., DE MARCHI, G., MAZZARIOL, C., GALETTI-PRAYER, T. & CECCHETTI, W. 2001. 980-nm diode laser treatment for recurrent urethral strictures. *Eur Urol*, 39 Suppl 2, 19-22.

HAKENJOS, L., BAMBERG, M. & RODEMANN, H. P. 2000. TGF-beta1-mediated alterations of rat lung fibroblast differentiation resulting in the radiation-induced fibrotic phenotype. *Int J Radiat Biol*, 76, 503-9.

HECK, M. & FRESENIUS, M. 2007. Anästhesie in der Urologie. *Repetitorium Anästhesiologie*. Springer Berlin Heidelberg.

HEES, H., SINOWATZ, F. 2000. *Histologie*, Köln, Deutscher Ärzte-Verlag GmbH.

HEHRLEIN, C., GOLLAN, C., DONGES, K., METZ, J., RIESSSEN, R., FEHSENFELD, P., VON HODENBERG, E. & KUBLER, W. 1995. Low-dose radioactive endovascular stents prevent smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia in rabbits. *Circulation*, 92, 1570-5.

HEINZELLER, T. & BÜSING, C. M. 2001. *Histologie, Histopathologie und Zytologie für den Einstieg, 47 Tabellen*, Stuttgart [u.a.], Thieme.

HEITZ, M., POTTEK, T. & SCHREITER, F. 1998. Anatomie und Blutversorgung des Penis und der Harnröhre. *Urologe A*, 32:2-7.

HELD, A. 2007. *Beurteilung des Einsatzes eines radioaktiven, resorbierbaren Implantats in der filtrierenden Glaukomchirurgie anhand verschiedener*

Augeninnendruckmessmethoden und der Histologie.

- *Experimentelle Untersuchungen am Kaninchen-*. Ludwig-Maximilians-Universität München.

HERSKIND, C., BENTZEN, S. M., OVERGAARD, J., OVERGAARD, M., BAMBERG, M. & RODEMANN, H. P. 1998. Differentiation state of skin fibroblast cultures versus risk of subcutaneous fibrosis after radiotherapy. *Radiother Oncol*, 47, 263-9.

HERSKIND, C., JOHANSEN, J., BENTZEN, S. M., OVERGAARD, M., OVERGAARD, J., BAMBERG, M. & RODEMANN, H. P. 2000. Fibroblast differentiation in subcutaneous fibrosis after postmastectomy radiotherapy. *Acta Oncol*, 39, 383-8.

HEYNS, C. F., STEENKAMP, J. W., DE KOCK, M. L. & WHITAKER, P. 1998. Treatment of male urethral strictures: is repeated dilation or internal urethrotomy useful? *J Urol*, 160, 356-8.

HILDEBRANDT, G., RÖDEL, F. (ed.) 2006. *Radiobiologische Aspekte der Bestrahlung inflammatorischer Prozesse*, Münster: Diplodocus verlag.

HINZ, B. 2007. Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. *J Invest Dermatol*, 127, 526-37.

HOFMANN, R. 2005. *Endoskopische Urologie*, Springer Medizin Verlag Heidelberg.

HOFSTETTER, A. G. 2003. *Lasergestützte Operationsverfahren in der Urologie*, Stuttgart, Thieme.

HOFSTETTER, A. G., EISENBERGER, F. 1996. *Urologie für die Praxis*, München/Stuttgart, Springer Verlag.

HONNENS DE LICHTENBERG, M. & MISKOWIAK, J. 1990. [Urethral stricture]. *Ugeskr Laeger*, 152, 1281-5.

ISOTALO, T. M., NUUTINE, J. P., VAAJANEN, A., MARTIKAINEN, P. M.,

LAURILA, M., TORMALA, P., TALJA, M. & TAMMELA, T. L. 2006. Biocompatibility properties of a new braided biodegradable urethral stent: a comparison with a biodegradable spiral and a braided metallic stent in the rabbit urethra. *BJU Int*, 97, 856-9.

JOCHAM, D., MILLER, K. 2007. *Praxis der Urologie*, Stuttgart, Thieme Verlag.

KAMAL, B. A. 2001. The use of the diode laser for treating urethral strictures. *BJU Int*, 87, 831-3.

KILIAN, J. & SCHREITER, F. 1998. [Diagnosis of urethral stricture--what is necessary?]. *Urologe A*, 37, 8-9.

KIRWAN, J. F., CONSTABLE, P. H., MURDOCH, I. E. & KHAW, P. T. 2003. Beta irradiation: new uses for an old treatment: a review. *Eye (Lond)*, 17, 207-15.

KLOSTERHALFEN, B., RÖTTGER, P., HOPPE, J. D. & PETER, S. 2007. Das nichtneoplastische Übergangsepithel der ableitenden Harnwege. In: RATHERT, P. & ROTH, S. (eds.) *Urinzytologie*. Springer Berlin Heidelberg.

KNAPPE, V. 2003. Diode Lasers. In: BERLIEN, H.-P., MÜLLER, G. J. (ed.) *Applied Laser Medicine*. Berlin Heidelberg New York: Springer Verlag.

KOELBL, O., ALBERTI, W. E., SEEGENSCHMIDT, M. H. 2008. Heterotopic Ossification Prophylaxis - The hip. In: SEEGENSCHMIDT, H. M., MAKOSKI, H.-B., TROTT, K.-R., BRADY, L. W. (ed.) *Radiotherapy for Non-Malignant disorders*. Berlin-Heidelberg: Springer Verlag.

KRAFT, W. 2005. *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*, Stuttgart [u.a.], Schattauer.

KRAUSE, W. 1884. *Anatomie des Kaninchens*, Leipzig, Verlag von Wilhelm Engelmann.

KRIEGER, H. 2007. *Grundlagen der Strahlungsphysik und des Strahlenschutzes*, Wiesbaden, Teubner.

KRÖPFL, D., OLSCHESKI, T. & SEEGENSCHMIEDT, M. H. 2004. [Endourethral brachytherapy for the prevention of recurrent strictures following internal urethrotomy.]. *Urologe A*, 43, 1254-61.

LAIRD, J. R., CARTER, A. J., KUFUS, W. M., HOOPEES, T. G., FARB, A., NOTT, S. H., FISCHELL, R. E., FISCHELL, D. R., VIRMANI, R. & FISCHELL, T. A. 1996. Inhibition of neointimal proliferation with low-dose irradiation from a beta-particle-emitting stent. *Circulation*, 93, 529-36.

LANG, G. 2006. *Histotechnik*

Praxislehrbuch für die biomedizinische Analytik ; [für MTA und biomedizinische Analytikerinnen], Wien [u.a.], Springer.

LARA, P. C., RUSSELL, N. S., SMOLDERS, I. J., BARTELINK, H., BEGG, A. C. & COCO-MARTIN, J. M. 1996. Radiation-induced differentiation of human skin fibroblasts: relationship with cell survival and collagen production. *Int J Radiat Biol*, 70, 683-92.

LIEBICH, H.-G. 2004. *Funktionelle Histologie der Haussäugetiere*

Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis ; mit 11 Tabellen, Stuttgart [u.a.], Schattauer.

LIEDL, B. 2007. *Urologische Wundbehandlung und Verband*, Stuttgart, Thieme Medizin Verlag.

LOHR, F. & WENZ, F. 2007. *Strahlentherapie kompakt*, München [u.a.], Elsevier, Urban & Fischer.

LORENA, D., UCHIO, K., COSTA, A. M. & DESMOULIERE, A. 2002. Normal scarring: importance of myofibroblasts. *Wound Repair Regen*, 10, 86-92.

LUMEN, N., PIET HOEBEKE, PIETER WILLEMSSEN, BART DE TROYER, RONNY PIETERS AND WILLEM OOSTERLINCK 2009. Etiology of urethral stricture Diseases in the 21st Century. *The Journal of urology*, Vol. 182, 983-987.

MAZDAK, H., IZADPANAHI, M. H., GHALAMKARI, A., KABIRI, M., KHORRAMI, M. H., NOURI-MAHDAVI, K., ALIZADEH, F., ZARGHAM, M., TADAYYON, F., MOHAMMADI, A. & YAZDANI, M. 2009. Internal urethrotomy and intraurethral submucosal injection of triamcinolone in short bulbar urethral strictures. *Int Urol Nephrol*.

MEISTER, P. 1998. [Myofibroblasts. Review out outlook]. *Pathologie*, 19, 187-93.

MERIA, P., ANIDJAR, M., BROULAND, J. P., TEILLAC, P., LE DUC, A., BERTHON, P. & CUSSENOT, O. 1999. An experimental model of bulbar urethral stricture in rabbits using endoscopic radiofrequency coagulation. *Urology*, 53, 1054-7.

MILROY, E. 1998. [Stents in therapy of urethral strictures]. *Urologe A*, 37, 51-5.

MOHAMMED, S. H. & WIRIMA, J. 1988. Balloon catheter dilatation of urethral strictures. *AJR Am J Roentgenol*, 150, 327-30.

MOLL, F., MARX, F. J. 1999. Historische Anmerkungen zur Therapie von Harnröhrenstrikturen. *Urologe B*, 39, 121-126.

MOLL, K.-J. & MOLL, M. 2006. *Anatomie*

Kurzlehrbuch zum Gegenstandskatalog, München [u.a.], Elsevier, Urban & Fischer.

MORENO SIERRA, J., PRIETO NOGAL, S., GALANTE ROMO, I., FERNANDEZ MONTARROSO, L., LOPEZ CORRAL, J. C. & SILMI MOYANO, A. 2008. [The usefulness of laser in the treatment of urethral

stenosis]. *Arch Esp Urol*, 61, 978-84.

MORGIA, G., SAITA, A., FALSAPERLA, M., SPAMPINATO, A., MOTTA, M. & CORDARO, S. 2000. Immunohistochemical and molecular analysis in recurrent urethral stricture. *Urol Res*, 28, 319-22.

MORI, Y., MATSUI, T., OGINO, T., HOSOKAWA, S., TSUJIMOTO, S., IHARA, H., TERAOKAWA, T., SHIMA, H., SHIMADA, K., ARIMA, M. & ET AL. 1989. [Treatment of congenital urethral stenosis (urethral ring) in children. Optic internal urethrotomy in the congenital bulbar urethral stenosis in boys]. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi*, 80, 704-10.

MUNDY, A. R. 1999. Pelvic fracture injuries of the posterior urethra. *World J Urol*, 17, 90-5.

MUNDY, A. R. 2006. Management of urethral strictures. *Postgrad Med J*, 82, 489-93.

NAGLER, A., GOFRIT, O., OHANA, M., PODE, D., GENINA, O. & PINES, M. 2000. The effect of halofuginone, an inhibitor of collagen type i synthesis, on urethral stricture formation: in vivo and in vitro study in a rat model. *J Urol*, 164, 1776-80.

NAUDÉ, A. M. & HEYNS, C. F. 2005. What is the place of internal urethrotomy in the treatment of urethral stricture disease? *Nat Clin Pract Urol*, 2, 538-45.

NEUHAUS, J., HEINRICH, M., SCHLICHTING, N., OBERBACH, A., FITZL, G., SCHWALENBERG, T., HORN, L. C. & STOLZENBURG, J. U. 2007. Struktur und Funktion der suburothelialen Myofibroblasten in der humanen Harnblase unter normalen und pathologischen Bedingungen. *Der Urologe A*, 46, 1197-1202.

NICKEL, R., SCHUMMER, A., SEIFERLE, E. & BÖHME, G. 2004. *Lehrbuch*

der Anatomie der Haustiere, Berlin, Parey.

NIESEL, T., MOORE, R. G., ALFERT, H. J. & KAVOUSSI, L. R. 1995. Alternative endoscopic management in the treatment of urethral strictures. *J Endourol*, 9, 31-9.

O'MALLEY, B. 2008. *Klinische Anatomie und Physiologie bei kleinen Heimtieren, Vögeln, Reptilien und Amphibien*

Clinical anatomy and physiology of exotic species <dt.>, München [u.a.], Elsevier, Urban & Fischer.

OLSCHEWSKI, T., KROPFL, D. & SEEGENSCHMIEDT, M. H. 2003. Endourethral brachytherapy for prevention of recurrent urethral stricture following internal urethrotomy--first clinical experiences and results. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 57, 1400-4.

OLSCHEWSKI, T., KRÖPFL, D., SEEGENSCHMIEDT, M. H. (ed.) 2006a. *Endourethrale HDR-Brachytherapie zur Strikturprophylaxe Verhinderung von Rezidivstrikturen nach Urethrotomia interna*, Münster: Diplodocus verlag.

OLSCHEWSKI, T., KRÖPFL, D., SEEGENSCHMIEDT, M.H. 2006b. Radiotherapie bei gutartigen Erkrankungen. *In: SEEGENSCHMIEDT, M. H., MICKE, O. (ed.) 40. Kolloquium Radioonkologie/Strahlentherapie 10. Symposium DEGRO-AG, Essen*. Münster: Diplodocus Verlag

OTTO, H. 2011. Untersuchung zur Wundheilungsmodulation durch lokal integrierte Betastrahler am Gallengangmodell Schwein. München, 2011.

PALMINTERI, E., GACCI, M., BERDONDINI, E., POLUZZI, M., FRANCO, G. & GENTILE, V. 2009. Management of Urethral Stent Failure for Recurrent Anterior Urethral Strictures. *Eur Urol*.

PANSADORO, V. & EMILIOZZI, P. 1998. Internal urethrotomy. *Urologe A*, 37,

21-4.

PARNIGOTTO, P. P., GAMBA, P. G., CONCONI, M. T. & MIDRIO, P. 2000. Experimental defect in rabbit urethra repaired with acellular aortic matrix. *Urol Res*, 28, 46-51.

PEREZ, C. A., VIJAYAKUMAR, S., HALL, E. J. & BRENNER, D. J. 2006. Radiobiology of Low- and High-Dose-Rate Brachytherapy. In: LEVITT, S. H. & PURDY, J. A. (eds.) *Technical Basis of Radiation Therapy*. Springer Berlin Heidelberg.

PETERSON, A. C. & WEBSTER, G. D. 2004. Management of urethral stricture disease: developing options for surgical intervention. *BJU Int*, 94, 971-6.

PÜLS, M., WEICK, K., BADER, M., WEIDLICH, P., ASSMANN, W. , WEXEL, G. , SZROKA, R. 2009. OCT-assisted control of catheter positioning in the urethra of the rabbit - A feasibility study. *Medical Laser Application*, 24, 175-181.

RAIZNER, A. E., OESTERLE, S. N., WAKSMAN, R., SERRUYS, P. W., COLOMBO, A., LIM, Y. L., YEUNG, A. C., VAN DER GIESSEN, W. J., VANDERTIE, L., CHIU, J. K., WHITE, L. R., FITZGERALD, P. J., KALUZA, G. L. & ALI, N. M. 2000. Inhibition of restenosis with beta-emitting radiotherapy: Report of the Proliferation Reduction with Vascular Energy Trial (PREVENT). *Circulation*, 102, 951-8.

RATHERT, P. 1995. *Urinzytologie Praxis und Atlas*, Berlin [u.a.], Springer.

RAYA-RIVERA, A., ESQUILIANO, D. R., YOO, J. J., LOPEZ-BAYGHEN, E., SOKER, S. & ATALA, A. 2011. Tissue-engineered autologous urethras for patients who need reconstruction: an observational study. *The Lancet*.

REMMELE, W. 1997. *Männliches Genitale, Niere, ableitende Harnwege und Urethra, Skelettsystem, Gelenke, Sehnen und Sehnengleitgewebe, Bursen, Faszien, Haut, 107 Tabellen*, Springer Verlag.

RICHTER, E. & FEYERABEND, T. 2002. *Grundlagen der Strahlentherapie mit 86 Tabellen*, Berlin [u.a.], Springer.

RÖDDER, K., OLIANAS, R. & FISCH, M. 2006. [Urethral strictures--operative strategy]. *Urologe A*, 45, 499-511; quiz 512-3.

RODEMANN, H. P. (ed.) 2006. *Radiobiologische Mechanismen von niedrigen Bestrahlungsdosen am Bindegewebe*, Münster: Diplodocus Verlag.

RODEMANN, H. P. & BAMBERG, M. 1995. Cellular basis of radiation-induced fibrosis. *Radiother Oncol*, 35, 83-90.

ROHEN, J. W. 2000. *Topographische Anatomie*

Lehrbuch mit besonderer Berücksichtigung der klinischen Aspekte und der bildgebenden Verfahren ; mit 101 Tabellen, Stuttgart [u.a.], Schattauer.

ROSSAINT, R. 2008. *Die Anästhesiologie*

allgemeine und spezielle Anästhesiologie, Schmerztherapie und Intensivmedizin ; [plus Filme im Web], Heidelberg, Springer.

RUBIN, P., SONI, A. & WILLIAMS, J. P. 1999. The molecular and cellular biologic basis for the radiation treatment of benign proliferative diseases. *Seminars in Radiation Oncology*, 9, 203-214.

RUSSELL, N. S., LARA, P. C., GRUMMELS, A., HART, A. A., COCO-MARTIN, J. M., BARTELINK, H. & BEGG, A. C. 2000. In vitro differentiation characteristics of human skin fibroblasts: correlations with radiotherapy-induced breast fibrosis in patients. *Int J Radiat Biol*, 76, 231-40.

SACHSE, H., TIEFEL, W. & SACHSE, L. 1985. [Causes and prevention of complications in transurethral interventions. Interventions in the urethra]. *Urologe A*, 24, 189-94.

SAHINKANAT, T., OZKAN, K. U., CIRALIK, H., OZTURK, S. & RESIM, S. 2009. Botulinum toxin-A to improve urethral wound healing: an experimental study in a rat model. *Urology*, 73, 405-9.

SANTUCCI, R. & EISENBERG, L. Urethrotomy has a much lower success rate than previously reported. *J Urol*, 183, 1859-62.

SANTUCCI, R. & EISENBERG, L. 2010. Urethrotomy has a much lower success rate than previously reported. *J Urol*, 183, 1859-62.

SAUER, R. 2003. *Strahlentherapie und Onkologie mit 58 Tabellen*, München [u.a.], Urban & Fischer.

SCHERZ, H. C., KAPLAN, G. W., BOYCHUK, D. I., LANDA, H. M. & HAGHIGHI, P. 1992. Urethral healing in rabbits. *J Urol*, 148, 708-10; discussion 711-3.

SCHMEDT, C. G., SROKA, R., SADEGHI, M., STECKMEIER, B. M. & HUPP, T. 2010. Neue Entwicklungen der endovenösen Lasertherapie. *Gefässchirurgie*, 15, 125-132.

SCHMELZ, H. U., SPARWASSER, C., WEIDNER, W. 2006. *Facharztwissen Urologie: Differenzierte Diagnostik und Therapie*, Heidelberg, Springer Medizin Verlag.

SCHNEEDE, P., HUNGERHUBER, E., SEITZ, M. 2003. Urethrastrikturen. In: HOFSTETTER, A. G. (ed.) *Lasergestützte Operationsverfahren in der Urologie*. Stuttgart: Thieme Verlag.

SCHNEIDER, T., SPERLING, H., LUMMEN, G. & RUBBEN, H. 2001. [Sachse internal urethrotomy. Is erectile dysfunction a possible complication?]. *Urologe A*, 40, 38-41.

SCHREIBER, H., OEHLERT, W. & KUGLER, K. 1969. Regeneration und Proliferationskinetik des normalen und strahlengeschädigten Urothels der Ratte. *Virchows Archiv B Cell Pathology Zell-pathologie*, 4, 30-44.

SCHREITER, F., JORDAN, G.H. 2006. *Reconstructive Urethral Surgery*, Heidelberg, Springer Medizin Verlag.

SCHUBERT, M. 2007. *Radioaktive Implantate für medizinische Anwendungen*. Ludwig–Maximilians–Universität, München.

SCHULTHEISS, D., TRUSS, M. C. & JONAS, U. 1998. History of direct vision internal urethrotomy. *Urology*, 52, 729-34.

SCHULTZE-SEEMANN, F. 1982. The historical evolution of the internal urethrotomy. *Eur Urol*, 8, 54-60.

SCOTT, T. M. & FOOTE, J. 1980. Early events in stricture formation in the guinea pig urethra. *Urol Int*, 35, 334-9.

SEEGENSCHMIEDT, M. H., KATALINIC, A., MAKOSKI, H., HAASE, W., GADEMANN, G. & HASSENSTEIN, E. 2000. Radiation therapy for benign diseases: patterns of care study in Germany. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 47, 195-202.

SEITZ, M., RUSZAT, R., BAYER, T., TILKI, D., BACHMANN, A., STIEF, C., SROKA, R. & REICH, O. 2009. Ex vivo and in vivo investigations of the novel 1,470 nm diode laser for potential treatment of benign prostatic enlargement. *Lasers Med Sci*, 24, 419-24.

SERRUYS, P. W. & KAY, I. P. 2000. I like the candy, I hate the wrapper: the (32)P radioactive stent. *Circulation*, 101, 3-7.

SHIN, J. H., SONG, H. Y., MOON, D. H., OH, S. J., KIM, J. S., KIM, E. H., KIM, T. H., WOO, C. W., KIM, E. Y. & PARK, S. H. 2006. Effects of irradiation using a radioisotope-filled balloon on tissue hyperplasia caused by stent placement in a canine urethral model. *Acta Radiol*, 47, 436-43.

SINGH, M. & BLANDY, J. P. 1976. The pathology of urethral stricture. *J Urol*, 115, 673-6.

SOUZA-OFFTERMATT, G., STAUBACH, K. H., STERK, P., UDOLPH, A. 2004. *Intensivkurs Chirurgie*, München, Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag.

SPENCE, M. R. 1983. Gonorrhoea. *Clin Obstet Gynecol*, 26, 111-24.

STACK, R. S. & SCHLOSSBERG, S. M. 1998. [General principles in treatment of urethral strictures]. *Urologe A*, 37, 10-20.

STEFFENS, J. A., ANHEUSER, P., TREIYER, A. E., REISCH, B. & MALONE, P. R. 2010. Plastic meatotomy for pure meatal stenosis in patients with lichen sclerosus. *BJU International*, 105, 568-72.

STONE, H. B., COLEMAN, C. N., ANSCHER, M. S. & MCBRIDE, W. H. 2003. Effects of radiation on normal tissue: consequences and mechanisms. *Lancet Oncol*, 4, 529-36.

SUN, Y. H., XU, C. L., GAO, X., JIN, Y. N., WANG, L. H., LIAO, G. Q., WANG, Z. F., HOU, J. G., QIAN, S. X. & YONG-JIANG, M. A. 2001. Intraurethral brachytherapy for prevention of recurrent urethral stricture after internal urethrotomy or transurethral resection of scar. *J Endourol*, 15, 859-61.

SWOBODA, A. 1929. Beitrag zur Kenntnis des Utriculus masculinus der

Haustiere. *Anatomy and Embryology*, Volume 89, Number 4 / Juni 1929, 494-512.

TAYLOR, A. J., GORMAN, P. D., FARB, A., HOOPES, T. G. & VIRMANI, R. 1999. Long-Term Coronary Vascular Response to ^{32}P {beta}-Particle-Emitting Stents in a Canine Model. *Circulation*, 100, 2366-2372.

TEPE, G. 2004. Brachytherapie und „drug-eluting stents“. *Gefässchirurgie*, 9, 96-104.

THOMAS, C., SCHMITZ-MOORMANN, P., BÜTTNER, R. 2002. Exogene Noxen. In: BÜTTNER, R., THOMAS, C. (ed.) *Allgemeine Pathologie*. Stuttgart: Schattauer

TROTT, K.-R., KAMPRAD, F.-H., HILDEBRANDT, G. 2008. Radiobiological Principles. In: SEEGENSCHMIEDT, M. H., MAKOSKI, H.-B., BRADY, L.W. (ed.) *Radiotherapy for Non-Malignant Disorders*. Berlin [u.a.]: Springer.

TROTT, K. R. 1994. Therapeutic effects of low radiation doses. *Strahlenther Onkol*, 170, 1-12.

TROTT, K. R. & KAMPRAD, F. 1999. Radiobiological mechanisms of anti-inflammatory radiotherapy. *Radiother Oncol*, 51, 197-203.

TROTT, K. R. & KAMPRAD, F. 2006. Estimation of cancer risks from radiotherapy of benign diseases. *Strahlenther Onkol*, 182, 431-6.

VAN DER GIESSEN, W. J., REGAR, E., HARTEVELD, M. S., COEN, V. L., BHAGWANDIEN, R., AU, A., LEVENDAG, P. C., LIGTHART, J., SERRUYS, P. W., DEN BOER, A., VERDOUW, P. D., BOERSMA, E., HU, T. & VAN BEUSEKOM, H. M. 2001. "Edge Effect" of (^{32}p) radioactive stents is caused by the combination of chronic stent injury and radioactive dose falloff. *Circulation*, 104, 2236-41.

VELNAR, T., BAILEY, T. & SMRKOLJ, V. 2009. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res*, 37, 1528-42.

VERIN, V., POPOWSKI, Y., DE BRUYNE, B., BAUMGART, D., SAUERWEIN, W., LINS, M., KOVACS, G., THOMAS, M., CALMAN, F., DISCO, C., SERRUYS, P. W. & WIJNS, W. 2001. Endoluminal beta-radiation therapy for the prevention of coronary restenosis after balloon angioplasty. The Dose-Finding Study Group. *N Engl J Med*, 344, 243-9.

VOISARD, R., HOB, J., BAUR, R., HERTER, T., HANNEKUM, A. & HOMBACH, V. 2006. Edge restenosis: impact of low dose irradiation on cell proliferation and ICAM-1 expression. *BMC Cardiovasc Disord*, 6, 32.

WAKSMAN, R., ROBINSON, K. A., CROCKER, I. R., WANG, C., GRAVANIS, M. B., CIPOLLA, G. D., HILLSTEAD, R. A. & KING, S. B., 3RD 1995. Intracoronary low-dose beta-irradiation inhibits neointima formation after coronary artery balloon injury in the swine restenosis model. *Circulation*, 92, 3025-31.

WANNENMACHER, M. 2006. *Strahlentherapie mit 306 Tabellen*, Berlin [u.a.], Springer.

WEIDLICH, P., ADAM, C., SROKA, R., LANZL, I., ASSMANN, W. & STIEF, C. 2007. [Low-dose rate brachytherapy with locally integrated beta emitters after internal urethrotomy. A pilot project using an animal model]. *Urologe A*, 46, 1231-5.

WYNN, T. A. 2008. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol*, 214, 199-210.

YARNOLD, J. & VOZENIN BROTONS, M. C. 2010. Pathogenetic mechanisms in radiation fibrosis. *Radiother Oncol*, 97, 149-61.

YOUNG, H. H., FRONTZ, W. A. & BALDWIN, J. C. 2002. Congenital obstruction of the posterior urethra. *J Urol*, 3: 289-365, 1919. *J Urol*, 167, 265-7; discussion 268.

ZINMAN, L. 2000. Optimal management of the 3- to 6-centimeter anterior urethral stricture. *Curr Urol Rep*, 1, 180-9.

ZINMAN, L. N. 1998. [Reconstruction of the posterior urethra]. *Urologe A*, 37, 31-7.

XIV. DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

- Herrn Prof. Dr. med. vet. habil. R. Köstlin danke ich für die Übernahme der Doktorarbeit im Rahmen des „BetaMod- Projekts“ an der Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München
- PD Dr. rer. nat. habil. Walter Assmann (Lehrstuhl für Experimentalphysik/Kernphysik Fakultät für Physik der LMU München) danke ich für die Bereitstellung des Themas, die Förderung und Betreuung bei der Durchführung des Projektes, sowie für sein Interesse an der Fertigstellung der Dissertation. Insgesamt bedanke ich mich für die „väterliche“ Unterstützung in allen Fragen rund um das „BetaMod-Projekt“ und das intensive Korrekturlesen der Arbeit
- Der Urologischen Klinik und Poliklinik der LMU München für die fachspezifische Betreuung und die Weiterentwicklung der Projektidee. Prof. Dr. med. C. Stief für sein Interesse an dieser innovativen Therapieform und die Unterstützung der geplanten klinischen Studie. Zudem bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. med. M. J. Bader für die Betreuung der Arbeit und bei Herrn Dr. med. P. Weidlich für die Durchführung des Tierversuchs
- Dr. rer. nat. Ronald Sroka (Laser-Forschungslabor im LIFE-Zentrum, LMU München) gilt ein besonderer Dank und ein „Hut ab“ vor der wissenschaftlichen und menschlichen Unterstützung und Frau Kathrin Siegrist für das Schneiden der Gewebepräparate und die Anleitung zur histologischen Aufbereitung, sowie die persönliche Betreuung
- Frau PD Dr. med. D. Mayr aus dem Pathologischen Institut der LMU München für die geduldige Hilfe bei der histopathologischen Auswertung und für die Bereitstellung der Räumlichkeiten zum Mikroskopieren
- Der Bayerischen Forschungstiftung, die das „BetaMod-Projekt“ finanziell unterstützt hat

-
- Prof. Dr. med. K.-R. Trott, University College London (UCL) Cancer Institute und PD Dr. med. J. Kummermehr, Strahlenbiologisches Institut der LMU München, für die Betreuung und die Beantwortung der strahlenbiologischen Fragen und ihre reges Interesse an der Arbeit
 - Prof. Dr. med. Ines Lanzl (klinische Projektleitung) Augenklinik des Klinikums rechts der Isar, TUM
 - Den Mitarbeitern des Laserforschungslabors für die freundliche Aufnahme in das Team und Felix Schade für die Entwicklung des Programms „Schrittmotorsteuerung“
 - Den Mitarbeitern des Instituts für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der TU München und der betreuenden Tierärztin TÄ Gabriele Sabine Wexel für die Leitung des Tierversuchs
 - Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei meiner geliebten Familie ohne deren moralische und auch finanzielle Unterstützung diese Arbeit niemals zustande gekommen wäre
 - Zu guter Letzt bei meiner Kollegin und Freundin Henrike Otto für die Hilfe und Freundschaft in schwierigen, aber auch schönen Zeiten