

Aus der
Urologischen Klinik und Poliklinik
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Professor Dr. med. Christian G. Stief

Effekte von GTP-Austauschfaktor-Inhibitoren
auf die glattemuskuläre Kontraktion der
humanen Prostata

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

vorgelegt von
Patrick Keller
aus
Stuttgart
2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. Martin Hennenberg

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Paul Gerhard Fabricius
PD Dr. Claudius Füllhase

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard HICKEL

Tag der mündlichen Prüfung: 02.05.2019

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	5
1.1. Allgemeines	5
1.2. Anatomie, Histologie und Funktion der Prostata	6
1.2.1 Embryologie der Prostata	6
1.2.2. Lage der Prostata	7
1.2.3. Makroskopischer Aufbau	7
1.2.4 Mikroskopischer Aufbau	8
1.2.5 Gefäßversorgung und Innervation	9
1.2.6. Sekretproduktion	10
1.2.7 Sekretemission und Ejakulation	11
1.3 Erkrankungen und Pathophysiologie	13
1.3.1 Prostatitis	13
1.3.2. Prostatakarzinom	15
1.4. Benigne Prostatahyperplasie	19
1.4.1. Terminologie	19
1.4.2. Epidemiologie	22
1.4.3. Ätiologie	23
1.5. LUTS	26
1.5.1. Terminologie und Allgemeines	26
1.5.2. Epidemiologie	27
1.5.3. Pathophysiologie	28
1.5.4. Symptomkomplex	29
1.5.5. Stadieneinteilung der LUTS	30
1.5.6. Diagnostik	31
1.6. Therapie von LUTS und BPS	35
1.6.1 LUTS-Therapie: Allgemeines	35
1.6.2. Kontrolliertes Zuwarten und Verhaltenstherapie	36
1.6.3. Medikamentöse Therapieoptionen	37
1.6.4. Neue medikamentöse Therapieoptionen	46
1.6.5. Nicht-medikamentöse Therapieoptionen	47
1.7. Glatte Muskulatur der Prostata	50
1.7.1. Glatte Muskulatur der Prostata – Tonusregulation	51
1.7.2. Physiologie der glatten Muskulatur – Molekulare Mechanismen	52
1.8 Signalwege der Kontraktionen von glatter Prostatamuskulatur	53

1.8.1. α_1 -adrenerge Kontraktion	53
1.8.1.1. α_1 -Adrenorezeptoren und rezeptorassoziierte G-Proteine	54
1.8.1.2. Mechanismen der α_1 -adrenergen Kontraktion in der humanen Prostata	54
1.8.2. Nicht-adrenerge Kontraktion in der Prostata	57
1.8.2.1. Endothelin-vermittelte Kontraktion in der Prostata	58
1.8.2.2. Thromboxan-vermittelte Kontraktion in der Prostata	59
1.9. Guanin-Exchange-Factors (GEFs)	61
1.9.2. GEF-Inhibitor SecinH3	61
1.9.1. GEF-Inhibitor ITX3	62
2 Zielsetzung	64
3 Material und Methoden	65
3.1. Humanes Prostatagewebe	65
3.2. Versuche im Organbad und myographische Messungen	66
3.2.1 KCl-induzierte Kontraktion	68
3.2.2. Ablauf der Messungen im Organbad	69
3.2.3. Kontraktionen des Prostatagewebes	71
3.3.1. Adrenerge Stimulation mit Noradrenalin und Phenylephrin	71
3.3.2. Kontraktion durch das Thromboxan-Analogon U46619	73
3.3.3. Kontraktion durch Endothelin 1-3	74
3.3.4. Elektrische Feld Stimulation	76
3.4 Inhibitoren	77
3.5. Lösungen und Puffer	79
3.6. Berechnung und Auswertung der Konzentrations- und Frequenz-Wirkungs-Kurven	81
4 Ergebnisse	83
5 Diskussion	94
6 Zusammenfassung	104
7 Literaturverzeichnis	106
8 Anhang	121
8.1 Veröffentlichungen	121
8.3 Danksagungen	122

1. Einleitung

1.1. Allgemeines

Der männliche akzessorische Geschlechtsdrüsen-Apparat besteht aus drei Drüsen mit verschiedenen Funktionen bei der Sekretproduktion. Die Prostata, auch Vorsteherdrüse genannt, ist eine dieser drei [1]. Die Funktion der akzessorischen Geschlechtsdrüsen besteht in der Bildung des Seminalplasmas, welches als Medium für den Transport und der Ernährung der Spermien dient [2]. Das Seminalplasma und die Spermien des Hodens bilden das Ejakulat. Die gesunde Prostata hat etwa die Größe einer Esskastanie und ihr Sekret macht 30% des gesamten Ejakulats aus. Sie nimmt damit den zweitgrößten Anteil nach dem Sekret der Bläschendrüse ein [1]. Die weiteren akzessorischen Geschlechtsdrüsen sind entlang des Samenweges gelegen: Die paarige Samenblasendrüse (*Glandula vesicularis*) und die paarige Harnröhrenzwiebeldrüse (*Glandula bulbourethralis*) [1].

Die Erkrankungen der Prostata spielen gesehen auf die Gesamtpopulation eine enorme Rolle. Laut der AWMF (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.) ist die Diagnose Prostatakarzinom mit über 25% aller bösartigen Erkrankungen die häufigste Krebserkrankung des Mannes in der Bundesrepublik Deutschland [3]. Noch häufiger ist die gutartige Vergrößerung der Prostata, welche bei zahlreichen Patienten Probleme beim Wasserlassen verursacht. In der Gruppe der 50 bis 59 Jährigen sind es 20% aller Männer, die eine mittlere bis schwere Symptomatik aufweisen; bei den über 70 Jährigen schon über 40% [4].

Die Symptome der BPH sind normalerweise nicht lebensgefährlich, können aber zu großen Einbußen der Lebensqualität der Männer des mittleren bis oberen Lebensalters führen [5]. Auf Grund der demographischen Bevölkerungsentwicklung werden in den nächsten Jahren immer mehr Männer Medikamente gegen die Symptome der BPH benötigen, doch trotz dieser massiver Zunahme der Anzahl von Männern mit therapiebedürftiger BPH, reduziert sich die Therapie bis jetzt hauptsächlich auf zwei Substanzklassen, welche nur milde bis moderate Symptome verbessern können [5].

Aus diesem Grund werden in der vorliegenden Arbeit Stoffe untersucht, welche die Therapie möglicherweise verbessern oder unterstützen könnten, um einen invasiven Eingriff hinauszuzögern oder sogar zu verhindern.

1.2. Anatomie, Histologie und Funktion der Prostata

Die Prostata ist eine der drei akzessorischen Geschlechtsdrüsen des Mannes [1]. Jedes männliche Säugetier besitzt eine Prostata, doch ausschließlich bei Primaten (inklusive Menschen) und Hunden ist sie zirkulär um die Harnröhre angelegt, und wiederum ausschließlich bei Primaten von der sog. Prostatakapsel umgeben [6]. Durch ihre besondere Lage spielt sie bei Vergrößerung eine zentrale Rolle bei der Einengung der Harnröhre mit Beschwerden beim Wasserlassen als möglicher Folge.

1.2.1 Embryologie der Prostata

Die Prostata entwickelt sich aus entodermalen Gewebsanteilen [7]. Das Entoderm ist das innere der drei Keimblätter, die während der Embryogenese angelegt werden, und aus dem alle Körperzellen und Strukturen entstehen. Entodermalen Ursprungs sind im männlichen Urogenitaltrakt auch das Trigonum vesicae der Blase und das Epithel der Harnröhre [7]. Das Drüsenepithel der Prostata entwickelt sich aus dem Sinus urogenitalis, genauer gesagt aus den embryologisch kranialen Harnröhrenabschnitten. Hier treten Aussprossungen hervor, welche in das umgebende Mesenchym hineinwachsen. Diese Infiltration der Epithelaussprossungen in das Mesenchym findet zwischen der 16. und 22. Schwangerschaftswoche statt [8]. Die enge Beziehung zwischen Prostata und Harnröhre wird also schon in der Embryologie angelegt und spiegelt sich dann im voll entwickelten Zustand in der Pars prostaticus urethrae wider [7, 9].

1.2.2. Lage der Prostata

Die Prostata befindet sich im kleinen Becken des Mannes. Sie liegt direkt an der Basis der Harnblase und hat keinen Kontakt mit dem Peritoneum urogenitale [1]. Das bedeutet, dass sie vollständig extraperitoneal liegt, genauer gesagt im Spatium extraperitoneale pelvis [1, 9]. Sie liegt an zwei Muskeln des Beckenbodens auf: Einerseits vor allem lateral dem Musculus levator ani und andererseits kaudal, wo sie durch den Hiatus urogenitalis ragt, dem Musculus transversus perinei profundus [1, 9]. Ventral wird sie durch das Ligamentum puboprostaticum, einer Bindegewebsverstärkung im Spatium retropubicum, am Hinterrand der Symphyse befestigt [1]. Nach dorsal wird sie durch die Fascia retroprostatica, eine bindegewebige Fascie, auch Denonvillier'sche Fascie genannt, von der Vorderwand des Rectums getrennt [1, 9-11]. Die Prostata ist über diese Fascie mit dem Rectum verbunden und kann so rektal getastet und untersucht werden [11].

Die Samenbläschen, Gll. vesiculosae, liegen der Harnblase dorsokaudal an. Ihr Ausführungsgang, Ductus excretorius, vereinigt sich mit dem Ductus deferens. Zusammen bilden sie den Ductus ejaculatorius, der die Prostata durchzieht [1, 9].

Von hoher Bedeutung für die gutartigen Erkrankungen der Prostata ist die Lage der Prostata in Bezug auf die Harnröhre: Die Prostata umfasst nämlich ringförmig die Harnröhre, was bei ihrer Vergrößerung die unten beschriebenen Probleme und Symptome verursachen kann [1, 9].

1.2.3. Makroskopischer Aufbau

Die gesunde Prostata ist dorsal abgeplattet und hat die Größe einer Esskastanie [1]. Sie ist aufgebaut aus einem rechten Lappen, Lobus dexter, einem linken Lappen, Lobus sinister, welche ventral durch den Isthmus prostatae und dorsal durch den Lobus medius verbunden sind [1, 9]. Die Prostata, auch Vorsteherdrüse genannt, ist von einer festen Kapsel aus derbem Bindegewebe umgeben, der Capsula prostatica [1, 9]. Diese kräftige, fibröse Kapsel enthält glatte Muskulatur [1]. Der Anteil der Prostata welcher der Harnblase anliegt wird als Basis

bezeichnet und der Teil der den Übergang zur Harnröhre darstellt, wird als Apex bezeichnet. Der Abschnitt der Harnröhre, welcher die Prostata durchzieht, ist die Pars prostatica der Harnröhre [12]. Dieser Anteil der Harnröhre ist etwa 3,5cm lang [12]. Das Sekret der Prostata wird in ca. 40 Läppchen produziert, das dann in etwa 20 Ausführungsgängen Richtung Harnröhre transportiert wird, um hier in direkter Umgebung des Ductus ejaculatorii in die Harnröhre zu münden und abgegeben zu werden [12].

Die Ausmaße der Prostata im nicht-pathologischen Zustand betragen [9]:

- Sagittaldurchmesser ca. 2-3 cm
- Breite ca. 4 cm
- Dicke ca. 1-2 cm
- Masse 20 g

1.2.4 Mikroskopischer Aufbau

In der Prostata befinden sich ca. 40 verzweigte, tubuloalveoläre Einzeldrüsen [1, 9, 13]. Die Lumina der Drüsen sind unterschiedlich groß und werden von Falten unvollständig unterkammert [13]. Diese münden mit 15-30 Ausführungsgängen überwiegend in den distalen Anteil der prostatistischen Harnröhre [13]. Die Drüsen der Prostata sind in ein bindegewebiges Stroma eingebettet, welches durch die derbe Organkapsel, Capsula prostatica, zusammengehalten wird [13]. Charakteristisch für die Prostata sind die vielen glatten Muskelzellen, welche das Stroma durchziehen und für die Emission des Sekrets in die Harnröhre zuständig sind [13]. Das Epithel ist zweireihig und besteht aus Basal- und Hauptzellen [13]. Während der Pubertät können sich, unter der Einwirkung von Androgenen, diese Zellen in sekretorische Zellen differenzieren [14]. Je nach sekretorischer Aktivität sind diese Zellen kubisch beziehungsweise zylindrisch. Neben den Basal- und Hauptzellen des Epithel kommen endokrine Zellen vor, welche Calcitonin und Serotonin produzieren und an das umliegende Stroma beziehungsweise in das Lumen abgeben [14]. Es finden sich gelegentlich auch vereinzelt Prostatateine, die bis zu 2 mm groß werden können; sie entstehen aus Sekretbestandteilen und aus abgeschilferten Epithelzellen, die in der Regel jedoch keinen Krankheitswert besitzen.

Die Prostata wird klinisch-histologisch nach McNeal in Zonen unterteilt [9]:

- Die Periurethrale Zone hat mit 5-10 % der gesamten Prostata-Masse den kleinsten Anteil und ist manschettenförmig um das proximale Urethrasegment gelegen [9]. Hier befinden sich kurze Urethra-eigene Drüsen in der glattmuskulären Wand der Harnröhre [13]. In dieser Zone spielt die Volumenzunahme der Prostata durch die Benigne Prostatahyperplasie, auf die im Verlauf dieser Arbeit eingegangen wird, und die damit eintretende Einengung der Harnröhre eine erhebliche Rolle [9].
- Die zentrale Zone (ca. 25 %) liegt dorsal der Urethra und reicht keilförmig nach kranial [9]. Durchzogen wird sie von den Ductus ejaculatorii. Die hier liegenden Drüsenanteile der Prostata werden von glatten Muskelzellen und Bindegewebe umgeben [1].
- Die größte der drei ist die Periphere Zone (ca. 70 %). Hier liegen die 40-50 Prostatadrüsen, die in ein Stroma aus glatten Muskelzellen und elastischen Fasern eingebettet sind [1]. Die große Mehrzahl der Prostata-Karzinome treten in dieser Region auf, nämlich ca. 75 % [13, 15].

Andere Einteilungen unterscheiden noch zwei weitere Zonen der Prostata: eine sogenannte anteriore Zone, welche einen schmalen Sektor der Innenzone und Periurethralen Zone ausmacht und drüsenfrei ist, sowie eine schmale Übergangszone, Transitionszone, beidseits der Periurethralen Zone [1].

1.2.5 Gefäßversorgung und Innervation

Die absteigende Aorta zweigt sich im Becken in die Arteria iliaca externa und Arteria iliaca interna auf. Letztere gibt zahlreiche Äste in das Becken und zu den Organen des kleinen Beckens ab, darunter die Arteria vesicalis inferior und die Arteria rectalis media [1, 9]. Die arterielle Versorgung der Prostata stammt aus diesen beiden Gefäßen, zum Großteil aus der

Arteria vesicalis inferior. Beide Arterien geben kleine Ramii prostatici ab, welche sich außerhalb der Organkapsel in sehr viele kleine Ästchen aufteilen [1, 9].

Der venöse Abfluss der Prostata erfolgt über den Plexus venosus prostaticus. Das venöse Blut drainiert in dieses Geflecht und fließt dann über die Venae vesicales in die Vena iliaca interna ab [1, 9]. Von hoher Bedeutung ist die anatomische Verbindung zwischen dem Plexus venosus prostaticus und dem Plexus venosus vertebralis: Hierdurch kann Blut in die untere Wirbelsäule gelangen und dadurch Tumorzellen des Prostatakarzinom als Metastasen in die Wirbelsäule verschleppt werden [9].

Die Lymphe fließt hauptsächlich zu den Nodi lymphoidei iliaci interni ab, entweder direkt oder über vorgeschaltete Stationen, wie zum Beispiel den sakralen Lymphknoten [1]. Zusätzlich kann die Lymphe über die sakralen Lymphknoten zu den lumbalen Lymphregionen fließen [9].

Die vegetative Innervation der Prostata findet im Plexus prostaticus statt, welcher abzweigt aus dem Plexus hypogastricus inferior [1, 9]. Parasympathische Nervenfasern laufen als Nervi splanchnici pelvici, aus den Rückenmarksegmenten S 2-4, und sympathische Nervenfasern über die Nervi splanchnici lumbales und sacrales (L1- L2) [2, 9]. Auch einige sensorische und schmerzleitende Fasern laufen anscheinend über diese Nerven [2, 9]. Alle männlichen Säugetiere verfügen über ein Nervenbündel, dass vom pelvinen Nervenplexus zur Prostata kapsel zieht, um sich hier aufzuteilen und im Inneren der Prostata die ausgeprägte noradrenerge Innervation der glatten Muskelzellen zu bewerkstelligen, was für die vorliegende Arbeit von großer Bedeutung ist [2].

1.2.6. Sekretproduktion

Seminalplasma und Spermatozoen bilden zusammen das männliche Sperma. Das Seminalplasma ist das Sekret der akzessorischen Geschlechtsdrüsen, während die Spermatozoen im Hoden produziert werden [16]. Der Großteil des Spermas, ca. 95 % ist das Seminalplasma, die Spermatozoen machen nur lediglich 5 % aus. Der Hauptteil der Samenflüssigkeit wird durch die paarigen Samenblasen produziert. Dieses Sekret enthält das

wichtige Nährsubstrat Fruktose, sowie Prostaglandine, Phosphorcholine und die zur Samengerinnung notwendigen Koagulationsfaktoren [10]. Eine weitere Funktion der Samenblasenflüssigkeit ist die Pufferung des sauren Vaginalmilieus [10]. Die Prostata trägt mit circa 20 % auch einen erheblichen Teil der Samenflüssigkeit bei [10, 16, 17]. Das produzierte Sekret der Vorsteherdrüse ist leicht sauer, bei einem pH-Wert von 6,4, dünnflüssig, milchig und enzymreich. Außerdem befinden sich Zink, Phospholipide, Spermine und Phosphatasen im Sekret [10]. Auch das Prostata-spezifische Antigen (PSA), welches für die Diagnostik des Prostata-Karzinoms einen enormen Stellenwert hat, wird in den Drüsen der Prostata gebildet und zusammen mit dem Sekret der Prostata bei Ejakulation in die Harnröhre abgegeben [18]. Zusammenfassend ist zu sagen, dass das Sekret der Prostata die Überlebensfähigkeit der Spermien im männlichen sowie im weiblichen Reproduktionstrakt verbessert und so optimale Bedingungen für die Befruchtung herstellt [2].

1.2.7 Sekretemission und Ejakulation

Zu den Prozessen sexueller Erregung gehören beim Mann folgende Abläufe: Erektion, Emission und Ejakulation; dabei gehören Emission und Ejakulation zur sogenannten Orgasmusphase [19].

Sexuelle Erregung führt beim Mann zur Erektion. Diese wird vor allem über taktile Reize der Haut der Genitalien und verschiedener anderer Hautareale („erogene Zonen“) über sensorische, afferente Nervenfasern vermittelt und dann im Erektionszentrum des Sakralmarks auf efferente parasympathische Fasern, Nervi erigentes (Nn. splanchnici pelvici), umgeschaltet, welche zurück zum Penis führen, um die Erektion auszulösen [16, 19]. Höher gelegene Areale des ZNS können diesen Reflex entscheidend hemmen oder bahnen, hier haben vor allem Sinneseindrücke und psychische Faktoren eine große Bedeutung [16]. Die efferenten Fasern ausgehend vom Erektionszentrum setzen in den Schwellkörpern des Penis Stickstoffmonoxid (NO) frei. Das NO wirkt vasodilatierend und steigert somit die Blutzufuhr aus den Arteriae helicinae in die dilatierten Kavernen der Schwellkörper [19]. Zur Erektion kommt es nun, da die Corpora cavernosa des Penis gegen die feste bindegewebige Tunica albuginea, welche die Schwellkörper umgibt, drücken und so die Venen, die für den Blutabfluss zuständig sind, komprimiert [19].

Überschreitet das Erregungsniveau eine gewisse Schwelle, werden sympathische Efferenzen aus dem Thorakolumbalmark aktiviert [10, 19]. Diese Impulse lösen eine Kontraktion von Nebenhoden, Samenleiter, Bläschendrüse und Prostata aus. Der Vorgang findet unmittelbar vor der Ejakulation statt und führt dazu, dass Samenzellen aus dem Samenleiter, Samenflüssigkeit aus der Bläschendrüse und aus der Prostata in den hinteren Teil der Harnröhre abgegeben werden [2, 19].

Die Ejakulation ist ein komplexes Zusammenspiel zwischen Afferenzen aus Prostata und Urethra interna und sympathischen Efferenzen aus dem Lumbalmark. Durch letzteres werden rhythmische Kontraktionen des Ductus deferens und der Musculi bulbospongiosus bzw. ischiocavernosus ausgelöst. Durch diese Kontraktionen werden Spermien und Samenflüssigkeit ausgestoßen [19]. Das Ejakulat wird erst in dem Augenblick der Austreibung aus seinen typischen Komponenten zusammengesetzt [20]. Die simultane Kontraktion des Musculus sphincter internus der Harnblase verhindert einen Rückfluss (sogenannte retrograde Ejakulation) in die Harnblase [10, 16, 19]. Begleitet wird die Ejakulation von rhythmischen Kontraktionen im Beckenboden und Penisbereich. Weitere sympathische Aktivierungen wie der erhöhte Muskeltonus, Schweißsekretion, Tachykardie, Hyperventilation und Pupillendilatation finden statt. Dieser Vorgang wird als Orgasmus bezeichnet [16].

Das Ejakulat umfasst üblicherweise 2-6 ml und beinhaltet mehr als 20 Millionen Spermatozoen pro Milliliter. Es besteht aus den Spermien und aus den Begleitsekreten der akzessorischen Geschlechtsdrüsen. [18]. Einige Autoren unterteilen das Ejakulat weiter in drei Fraktionen [11]:

1. Die Vorfraktion, bestehend aus weißlichem Sekret der Prostata.
2. Die Hauptfraktion, farblos und gallertartig. Sie beinhaltet die Spermatozoen.
3. Die Schlussfraktion, leicht gelblich und aus den Bläschendrüsen stammend.

Die Funktion dieser Sekrete besteht einerseits darin, die Spermien zu suspendieren, andererseits enthalten sie aktive Wirkstoffe und Bestandteile, welche für die Befruchtung

erforderlich sind [18]. Dass die Spermien am Ende der Passage durch den Nebenhoden fertilisierungsfähig sind beweist allerdings, dass die Sekretionsprodukte der akzessorischen Geschlechtsdrüsen vielmehr ein Medium für den Transport der männlichen Gameten in den weiblichen Genitaltrakt darstellen, als eine unbedingte Voraussetzung für die Fertilisierung [20].

1.3 Erkrankungen und Pathophysiologie

Die Erkrankungen des männlichen Genital- und Harntrakts werden generell in zwei Gruppen unterschieden: Einerseits gutartige Veränderung, bedeutendste die benigne Prostatahyperplasie (BPH), und andererseits bösartige, als wichtigste sind hier die Karzinome der Prostata und des Hodens zu nennen.

Die Art der Erkrankung korreliert mit dem Alter, so sind junge Männer häufiger von Infektionen und Hodentumoren betroffen, und Männer im höheren Alter vor allem von der Benignen Prostatahyperplasie und dem Prostatakarzinom [21]. Für die Prostata sind drei pathologische Vorgänge von zentraler Bedeutung: Das Prostatakarzinom, die Entzündung der Prostata und die gutartige Vergrößerung der Prostata [22]. Nachfolgend werden die drei Erkrankungen näher erläutert, wobei im Hinblick auf die vorliegende Arbeit der Schwerpunkt auf der gutartigen Vergrößerung der Prostata liegt.

1.3.1 Prostatitis

Der untere Urogenitaltrakt der Männer ist auf Höhe der Harnröhre und der Prostata durch verschiedene Vorkehrungen geschützt. Die Harnröhre hat einen langen und engen Verlauf mit einer schützenden Residualflora im vorderen Urethralmittel. Der Spüleffekt der Miktion mit hohen toxischen Harnstoffkonzentrationen trägt weiter zum Schutz bei. Als drittes wird die Harnröhre durch eine uromukoidhaltige Schutzschicht mit IgA-Antikörpern geschützt [22]. Auch die Prostata hat Schutzmechanismen zur Abwehr von Erregern: Das muzinhaltige Prostatasekret enthält bakterizide Inhaltstoffe wie Zink, Polyamine wie Spermidine und Spermin, Lysozym, IgG, IgA und Lactoferrin [22].

Verschiedene Mechanismen können trotz dieser Schutzmechanismen dazu führen, dass eine bakterielle Prostatitis entstehen kann [22]:

- Reflux infizierten Urins in die Prostata bei Entleerungsstörungen durch uropathogene *Escherichia coli*, andere *Enterobacter*-Spezies, *Pseudomonas aeruginosa* und Enterokokken;
- Verschleppung von Keimen wie *Staphylococcus epidermidis* durch instrumentelle Manipulation (z.B. Blasenkatheter);
- Geschlechtsverkehr mit Verschleppung von *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis* und *Trichomonas vaginalis*.

Zur allgemeinen Morphologie der Prostatitis ist zu sagen, dass sie sich meist auf die periphere Organzone und den Bereich des Colliculus seminalis beschränkt [22]. Je nach Klinik und Ätiologie werden die unterschiedlichen Prostatitisformen nach Kategorien des National Institute of Health von 1998 unterteilt, diese unterscheidet [22-24]:

- I. Die Akute bakterielle Prostatitis, die durch einen rasanten Harnwegsinfekt mit Schmerzen im Bereich der Prostata, Dysurie und Pollakisurie beschrieben wird. Zusätzlich treten allgemeine Symptome wie Fieber und Schüttelfrost auf. Für diese Art der Prostatitis sind die Erreger meist im gramnegativen Bereich zu finden, wie *Escherichia coli*. Die Klinik, sowie der Erregernachweis im Urin führen zur Diagnose.
- II. Die chronische bakterielle Prostatitis beschreibt das Krankheitsbild rezidivierender Harnwegsinfekte. Die Symptomatik reicht von Dysurie bis zu erektilen Dysfunktionen. Die Erreger sind meist identisch mit denen der akuten Prostatitis. Die 4-Gläser Probe ist das diagnostische Mittel der Wahl.
- IIIa Das chronisch entzündliche Beckensyndrom, ist sehr ähnlich der chronischen Prostatitis, wobei die Symptomatik mindestens drei Monate ununterbrochen ist. Ein Erregernachweis ist im Harnblasenurin zu machen.
- IIIb Das chronisch nicht-entzündliche Beckenschmerzsyndrom ist durch einen neuropathischen Schmerz, interstitielle Zystitis und Dysfunktion im Bereich des

Detrusor-Sphincters kennzeichnend. Auch hier besteht die Problematik ununterbrochen mindestens drei Monate. Ein Erreger ist nicht nachzuweisen.

- IV Die asymptomatische Prostatitis ist nur durch Granulozyten im Prostataexprimat definiert. Ihre Ursache ist noch unklar und wird noch diskutiert.

Sowohl bei der akuten, als auch bei der chronischen Form der Prostatitis steht die antibakterielle Therapie im Zentrum. Bei rezidivierenden, chronischen Prostatididen sollte eine antibiotische Dauerprophylaxe empfohlen werden [23]. Die Therapie des Beckenschmerzsyndroms ist wesentlich komplexer und weitaus symptombezogener: Bei Obstruktion sind Alpha-Blocker die Therapie der Wahl, bei Nachweis von Bakterien steht die antibiotische Therapie im Vordergrund. Entzündungshemmende Substanzen sind von großer klinischer Relevanz. Die psychotherapeutische Behandlung sollte in Betracht gezogen werden, wenn der Verdacht auf eine Psychosomatisierung der Beschwerden fällt [23].

1.3.2. Prostatakarzinom

Das Prostatakarzinom ist eine der häufigsten bösartige Erkrankungen des Mannes. Da sich die vorliegende Arbeit hauptsächlich auf die gutartige Vergrößerung der Prostata und deren Symptome beschränkt, wird nachfolgend nur kurz auf das Prostatakarzinom und seine Entstehung und Verteilung eingegangen.

Epidemiologie

Das Prostatakarzinom ist die häufigste Krebserkrankung bei Männern in Deutschland. Im Jahr 2009 betrug die Neuerkrankungen knapp 65.000, die Prognose für 2014 lag bei über 70.000 [25]. Gleichzeitig ist es die dritthäufigste Krebstodesursache der Männer in Deutschland. Bei der Altersverteilung der auftretenden Prostatakarzinome ist auffällig, dass dieser Krebs eine Erkrankung der älteren Männer ist. Das macht folgende Statistik deutlich [25]: Für einen 35-jährigen Mann liegt die 10-Jahres Wahrscheinlichkeit an Krebs der Prostata zu erkranken unter 0,1 %, das Risiko eines 75-jährigen Mannes hingegen bei etwa 6 %. Die stetig steigende Anzahl der Prostatakarzinome ist neben der demographischen Entwicklung auch auf die

besseren Screeningmethoden (PSA-Wert Bestimmung und jährliche Prostata Kontrolle) zurückzuführen [25].

Die Überlebensrate für Prostatakrebs liegt derzeit bei 93 % im Hinblick auf die 5-Jahres-Rate. Die Mehrzahl der Tumore wird in frühen Stadien entdeckt und kann deshalb gut behandelt werden. Jedoch treten Todesfälle auch nach längerem Verlauf rezidivbedingt auf [25].

Ätiologie

Die Entstehung des Prostatakrebses ist trotz der Häufigkeit des Auftretens im Wesentlichen noch relativ unbekannt. Diskutiert wird eine multifaktorielle Genese, welche das Alter, die Genetik, die hormonellen Einflüsse sowie epigenetische Faktoren umfasst. Als größter Einfluss auf die Entstehung des Prostatakarzinoms wird das Alter gesehen [25, 26]. Dieser Krebs tritt bei jungen Männern nahezu nicht auf, dafür im Alter gehäuft. Ein weiterer Faktor scheint die Genetik zu sein: Das Risiko am Prostatakarzinom zu erkranken steigt beim Auftreten der Erkrankung bei Verwandten 1. Grades um das 2-3fache [26].

Neben Alter und Genetik wird der hormonelle Einfluss für die Entstehung des Prostatakarzinoms diskutiert. Gängige Meinung der Experten war, dass hohe Konzentrationen von Testosteron im Blut ein Risikofaktor für die Entstehung des Prostatakarzinoms sei. Diese Theorie wurde untermauert durch die Arbeiten von Huggins et al. [27, 28], in denen gezeigt wurde, dass sich durch Androgendeprivation der Prostatakrebs sowohl klinisch als auch biochemisch verbesserte, wohingegen die Testosterongabe zu einer Verschlechterung führte. Jüngere Studien zeigten jedoch, dass Männer mit einem hohen Serumtestosteronspiegel kein erhöhtes Risiko für ein Prostatakarzinom haben, entgegen der gängigen Hypothese [29]. Schon frühere Studien zeigten, dass exogene Testosteron-Zugabe keinen Effekt auf die Vergrößerung der Prostata oder den PSA-Wert haben [30]. Obwohl Langzeitdaten und Kontroll-Fall Studien fehlen, legt die verfügbare Literatur eindrucksvoll nahe, dass Testosteron weder das Risiko des Auftretens von Prostatakarzinomen, noch die Rückkehr von erfolgreich behandeltem Prostatakrebs steigert [3, 31].

Epigenetische Studien zeigen, dass Lebensumstände und Umwelteinflüsse die Inzidenz der Prostatakarzinome positiv beeinflussen können. Statistische Untersuchungen zeigten, dass sich die zuvor günstigeren Inzidenzen des Krebs von Emigranten aus dem asiatischen Raum in der zweiten Generation an die neuen Lebensumstände im emigrierten Land angleichen, wenn dort eine höhere Inzidenz vorzufinden war [23]. Andere Zusammenhänge wie Adipositas, Diabetes mellitus, Vasektomie oder venerische Infektionen auf die Entstehung von Prostatakarzinomen konnten vorerst noch nicht sicher belegt werden [3].

Pathophysiologie

In der Mehrzahl der Fälle (ca. 90 %) beginnen die ersten pathologischen Veränderungen in der peripheren Zone der Prostata [15]. Der Tumor kann sich dann in Richtung des zentralen Bereichs der Prostata ausbreiten, oder er bricht durch die Prostatakapsel und infiltrierte in das periprostatische Fett- und Bindegewebe [32].

Histologisch gesehen entstehen 98 % der Karzinome der Prostata aus Drüsenepithel. Nur selten findet man Plattenepithel- oder Übergangsepithelkarzinome [32]. Um die Klassifikation sowie die Prognose übersichtlicher einordnen zu können wurde das Grading nach Gleason eingeführt. Diese Einteilung richtet sich nach dem Drüsenmuster und nicht nach den zytologischen Veränderungen der Tumorzellen. Das Grading lässt Aussagen über die Prognose sowie die Beurteilung der Resektionsfläche zu [23, 32]. Neben dem Gleason Score spielt auch die Einteilung nach TNM eine große Rolle und wird üblicherweise für die Tumore bestimmt [32].

Diagnostik

Die Klinik des Prostatakarzinoms ist abhängig davon, in welchem Stadium sich das Karzinom befindet. Das Prostatakarzinom ist in frühen Stadien völlig asymptomatisch und kann in fortgeschrittenen Stadien zu Obstruktionssymptomen wie bei der BPH führen [32]. Ab und zu fällt der Krebs erst durch die Symptomatik der Metastasen auf, zum Beispiel tiefer Rückenschmerz bei ossärer Streuung [32]. Die rektale Untersuchung wird ab dem 45.

Lebensjahr empfohlen und gehört zur Routineuntersuchung beim Allgemeinarzt dazu [32]. Ein positiver Tastbefund erfordert eine Biopsie der Prostata zur Abklärung. Auch die Sonographie ist als bildgebendes Mittel in der Untersuchung der Prostata sehr wichtig. Bei der Erkennung eines Prostatakarzinoms ist die Sensitivität und Spezifität zwar beschränkt, jedoch eignet sich die transrektale Ultraschalluntersuchung optimal für die Durchführung der Prostatabiopsien [32]. Immer noch eines der wichtigsten Marker ist das prostataspezifische Antigen (PSA). Dieses Glykoprotein wird ausschließlich in der Prostata gebildet und dient der Verflüssigung des Spermas. Der PSA-Wert ist sowohl bei der benignen Prostatahyperplasie als auch beim Prostatakarzinom erhöht, wobei letzteres den Wert um den Faktor 10 des vergleichbaren Gewebes bei BPH erhöht [3, 32]. Über die Jahre ist trotz gewisser Unsicherheiten und Variationen die PSA-Untersuchung zu einem außerordentlich wichtigen Suchtest zur Früherkennung des Prostatakarzinoms geworden.

Therapie

Die Therapie des Prostatakarzinoms richtet sich nach dem Tumorstadium. Im frühesten Stadium, dem Stadium T1a, sind häufig keine weiteren Maßnahmen außer die engmaschige Kontrolle durch die Sonographie und des PSA-Wert nötig [32]. Generell wird jedoch Patienten mit lokal begrenztem Prostatakarzinom ohne Metastasen und einer Lebenserwartung von mehr als 10 Jahren zu einer radikalen Prostatektomie geraten [33]. Im Vergleich zwischen dem aufmerksamen Beobachten („watchful waiting“) und der Intervention ist die radikale Prostatektomie die einzige kurative Therapieoption, welche einen Überlebensvorteil mit sich bringt [34]. Bei der radikalen Prostatektomie wird die gesamte Prostata mit den Samenblasen entfernt. Je nach Tumorstadium werden auch die regionalen Lymphknoten mit herausgenommen [32].

Alternativ kommt die Strahlentherapie, bei fortgeschrittenen Tumoren die antiandrogene Therapie oder bei kastrationsresistenten Prostatakarzinomen die Chemotherapie zum Einsatz [32].

1.4. Benigne Prostatahyperplasie

Die benigne Prostatahyperplasie (BPH) kann man als Volkskrankheit des älteren Mannes bezeichnen [35]. Etwa 60 % aller Männer im Alter zwischen 40-50 Jahren zeigen gutartige Vergrößerungen der Prostata, mit zunehmenden Alter steigt dieser Prozentsatz [36, 37]. Durch die Alterung der Gesellschaft in Deutschland und die dadurch immer weiter steigende Prävalenz, gewinnt die BPH immer stärker an klinischer Relevanz [38]. In der vorliegenden Arbeit geht es um mögliche alternative pharmakologische Therapieansätze der BPH bzw. der daraus resultierenden Miktionsbeschwerden. Um diese zu verstehen wird im nächsten Abschnitt ausführlich auf die Erkrankung, die klinischen Symptome und die bisherige Therapie eingegangen.

1.4.1. Terminologie

Es werden vielfältige Abkürzungen und Synonyme parallel verwendet, um das Erkrankungsbild der obstruktiven Miktionsstörung des unteren Harntraktes zu beschreiben.

Die häufigste Bezeichnung ist die der benignen Prostatahyperplasie. Dieser Begriff beschreibt jedoch lediglich eine rein histologische Diagnose und kann erst postoperativ gestellt werden [35]. Die histologischen Veränderungen beziehen ein benignes Wachstum des Drüsengewebes und der Stroma-Zellen mit ein. Diese müssen jedoch nicht immer mit einer Volumenzunahme der Prostata assoziiert sein. Der Begriff „pBPH“ bezeichnet genau diesen Umstand, nämlich dass histologische Veränderungen vorhanden sind, jedoch unabhängig von vorhandenen oder nicht vorhandenen Volumenveränderungen der Prostata [39].

Frühere Definitionen schlossen irritative und obstruktive Symptome des unteren Harntraktes in den Begriff der BPH mit ein. Heutzutage ist man sich jedoch darüber bewusst, dass die BPH nicht selten asymptomatisch verläuft, und Symptome zudem als Speicher- und Entleerungs-Symptome getrennt betrachtet werden müssen [40, 41]. Trotzdem ist der Großteil aller Entleerungsstörungen der Patienten auf eine BPH zurückzuführen [38].

Um die histologische Diagnose BPH von dem eigentlichen klinischen Krankheitsbild mit den spezifischen Symptomen zu trennen, wurden die Bezeichnungen „benignes Prostatasyndrom“ (BPS) beziehungsweise „lower urinary tract symptoms“ (LUTS) eingeführt. Mit dem Begriff des BPS-Krankheitsbildes werden Symptome des ableitenden Harntrakts bezeichnet, welche speziell durch eine Obstruktion der vergrößerten Prostata verursacht werden, während mit LUTS die unterschiedliche Klinik des unteren Harntrakts gemeint ist, die mehrheitlich aber nicht ausschließlich mit einer prostatabedingten Obstruktion einhergeht [35].

Es sind noch weitere Begriffe üblich, die im Zusammenhang mit der Terminologie der benignen Prostataveränderungen benutzt werden. Sie werden in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Abkürzung	Begriff	Bedeutung
pBPH	pathologisch-histologisch beurteilte BPH	Histologische Bezeichnung ohne Aussage über Volumenveränderung
BPE	benign prostatic enlargement	Volumenzunahme der Prostata
BPS	Benignes Prostatasyndrom	Vergrößerung der Prostata mit Einbeziehung der klinischen Symptomatik
LUTS	lower urinary tract symptoms	Symptomatik des unteren Harntraktes
BOO	Bladder outlet obstruction	Obstruktion des Blasenauslasses
BPO	Benign prostatic obstruction	Durch BPE ausgelöste BOO

Tab. 1: Terminologie benigner Prostataveränderungen und –erkrankungen [39].

Die Bezeichnung BPH, die immer noch sehr häufig im klinischen Alltag benutzt wird, sollte analog zum TNM-System als pBPH gekennzeichnet werden, um die histologisch-pathologischen Veränderungen der Diagnose zu verdeutlichen [39]. Im Unterschied dazu beschreibt die BPE die tatsächliche Volumenzunahme der Prostata. Die Bezeichnung des „benignen Prostatasyndroms“ hat die Bezeichnung „benigne Prostatahyperplasie“, die lange verwendet wurde, abgelöst [39]. BPS stellt einen neuen Überbegriff dar, der die pathophysiologischen Zusammenhänge zwischen Symptomatik (LUTS), Prostatavergrößerung (BPE) und Obstruktion (BOO bzw. BPO) sinnvoll und übersichtlich zusammenfasst [36, 39, 42].

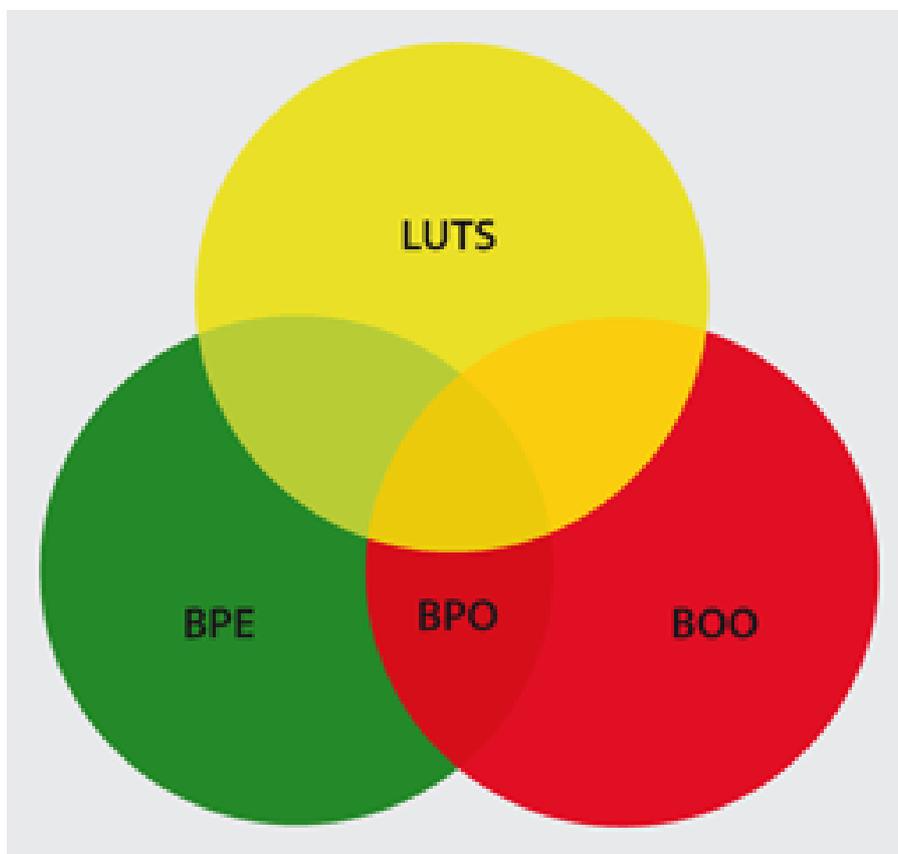


Abb. 1: Schematische Darstellung der Zusammenhänge zwischen Prostatavergrößerung (BPE), Symptomen des unteren Harntrakts (LUTS) und Blasenauslassobstruktion (BOO bzw. BPO) bei Männern mit benignem Prostatasyndrom (verändert nach T. Hald [43]).

Die benigne Prostatahyperplasie, BPH, ist gekennzeichnet durch ein Symptomkomplex durch variable Ausprägung von BPE, LUTS und BPO gekennzeichnet. Zusammengefasst wird dieser Komplex unter dem Begriff BPS, dem Benignen Prostata Syndrom. Anhand des obenstehenden Ringdiagramms, adaptiert nach T. Hald, kann das pathophysiologische

Konzept des BPS schematisch dargestellt werden [42, 43]. Aus diesem geht hervor, dass zwischen den einzelnen Komponenten keine sicheren Zusammenhänge bestehen. Zum Beispiel ist es bewiesen, dass es Männer mit gutartiger Prostatavergrößerung gibt, die klinisch, sowohl was Symptome des unteren Harntrakts als auch Obstruktionsprobleme betrifft, völlig unauffällig sind. Die Schnittschnelle in der Mitte zeigt den klassischen Fall mit definitiver Prostatavergrößerung, LUTS und Obstruktion [43]. Die Konsequenz, die aus diesen inkonsistenten Zusammenhängen folgt, ist dass die einzelnen Komponenten der BPS, also BPE, LUTS und BPO einzeln betrachtet und auch einzeln diagnostiziert werden müssen. Jeder Baustein kann für sich alleine vorkommen, allerdings können auch alle zusammen als Vollbild des klassischen BPS auftreten [42, 43].

1.4.2. Epidemiologie

Die Daten zur Epidemiologie der BPS werden in vielen verschiedenen Quellen unterschiedlich beschrieben. Dies ist der Fall, da einerseits das BPS eine enorme Verbreitung unter den Männern des mittleren und oberen Lebensalters besitzt, andererseits die eindeutige Definition der Erkrankung variabel und schwierig einzuteilen ist [36].

Laut einer repräsentativen Untersuchung in Deutschland (Herner BPS-Studie) weisen unter 11.674.900 Männern über 50 Jahren 3,23 Mio. eine benigne Prostatavergrößerung (BPE, Volumen > 25ml) auf. 1,5 Mio. Männer haben sogar ein Prostatavolumen über 40 ml und damit einhergehende behandlungsbedürftige Symptome des unteren Harntraktes (LUTS) [36]. 2,08 Mio. Männer zeigen eine obstruktive Blasenentleerungsstörung, davon 30 % mit medikamentöser Einstellung. Die Gesamtprogression des BPS beläuft sich auf 27 %, was bedeutet, dass bei 27 % der Patienten mit Symptomen innerhalb von 5 Jahren eine Verschlechterung (symptomatisch, Operation oder Harnverhalt) auftreten wird. Zusammenfassend ist zu sagen, dass es sich bei dem BPS um eine Volkskrankheit handelt, die für viele Männer in Deutschland einen enormen Einschnitt in die Lebensqualität bedeutet [36].

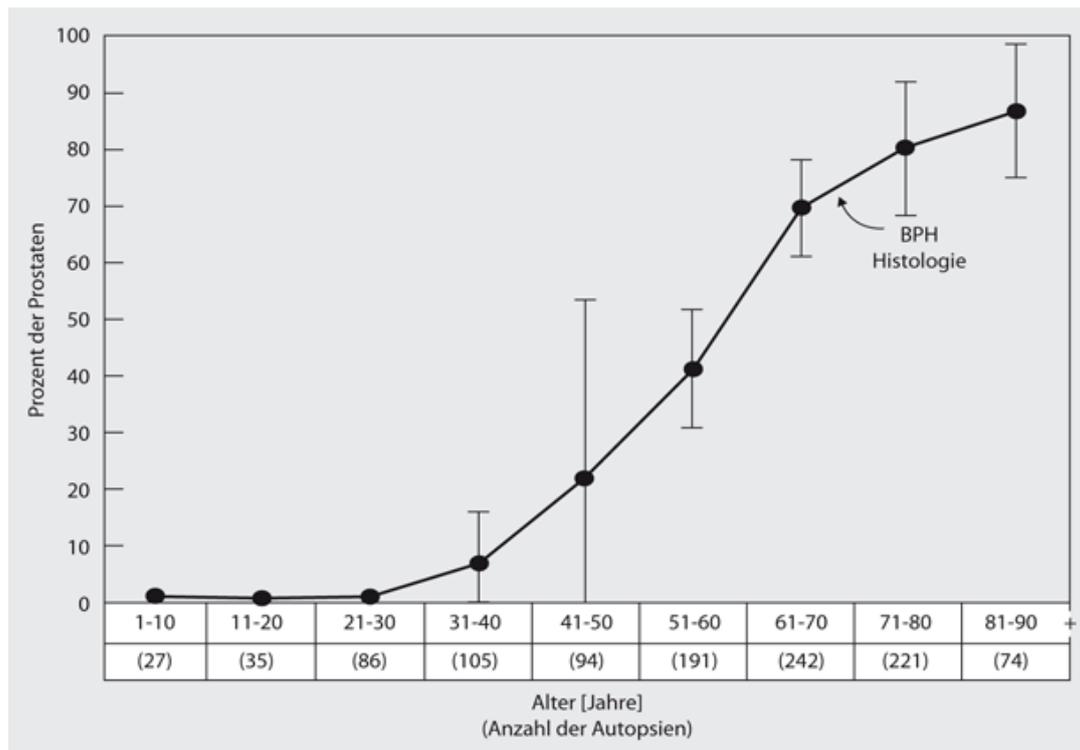


Abb. 2: Prävalenz der pBPH in einer Metaanalyse von Autopsiestudien mit insgesamt 1075 Männern. Adaptiert nach [44].

Abbildung 2 zeigt, dass die pBPH vor dem 30. Lebensjahr praktisch nicht auftritt. In den folgenden Lebensdekaden kommt es jedoch zu einem drastischen Prävalenzanstieg. Im 6. Lebensjahrzehnt sind bereits 40 % der Männer von Veränderungen im Prostatagewebe betroffen, im 9. Lebensjahrzehnt sind es sogar 90 % [42]. Das gutartige Wachstum von Zellen des Stroma- und Drüsengewebes muss zwar nicht unbedingt mit einer messbaren Volumenzunahme der Prostata einhergehen, jedoch ist die pBPH ein guter Indikator, um die Verbreitung von Prostataveränderungen sicher zu bestimmen [42].

1.4.3. Ätiologie

Die Ursache für die Prostatahyperplasie und das benigne Prostata Syndrom bei älteren Männern fasziniert sowohl Anatomen, als auch Pathologen und Wissenschaftler seit Jahrzehnten [45]. Die hyperplastischen Veränderungen, welche bei der BPH auftreten, können regelhaft in der periuretralen und transitionalen Zone der Prostata beobachtet werden, jedoch ist die genaue Herkunft noch immer teilweise ungeklärt [35]. Es gibt allerdings einige Theorien und Erklärungsansätze für deren Entstehung [46].

Die hauptsächlichen Auslöser, die für die Hyperplasie verantwortlich gemacht werden, sind das Alter, die Veränderungen im Testosteronstoffwechsel, genetische Prädisposition und, laut neueren Untersuchungen, epithelial-mesenchymale Interaktionen [45, 46]. Weitere Untersuchungen lassen darauf schließen, dass auch Oxidoreduktasen, Entzündungen und das metabolische Syndrom mit an der Entstehung von Prostatahyperplasien beteiligt sein können [46]. Die Pathogenese des BPS ist somit ein multifaktoriell bedingter Prozess [45].

Auffällig ist, dass bei präpubertären Kastraten keine BPH auftritt. Daraus leitete man die Schlussfolgerung ab, dass das Vorhandensein von Androgenen zwar keine BPH auslöst, jedoch das Vorhandensein von Androgenen für die Entwicklung der BPH essenziell ist [35, 46].

Für die Regulation der Hormonproduktion und Hormonausschüttung, über welche das Wachstum der Prostata vermittelt wird, ist ein Feedback-Mechanismus von großer Bedeutung. Im Hypothalamus, der Steuerzentrale des Gehirns für vegetative Funktionen des Körpers, wird das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) durch spezifische Neurone sezerniert. Auf dem Blutweg ist die nächste Station der Hypophysenvorderlappen, wo durch das genannte Releasing-Hormon die Freisetzung von LH und FSH stimuliert wird. LH, das luteinisierende Hormon, führt beim Mann zur Stimulation der Hodenzwischenzellen, den Leydig-Zellen, die für die Testosteronbildung verantwortlich sind. FSH, das follikelstimulierende Hormon fördert die Spermatogenese [47]. Die Leydig-Zellen des Hodens produzieren das Testosteron, welches in der Prostata durch die 5- α -Reduktase in Dihydrotestosteron (DHT) umgewandelt wird, welches 4-5fach so potent ist wie das normale Testosteron. Es existieren zwei Isoformen der 5- α -Reduktase, die Typ-1-5-AR, vor allem in extraprostatischem Gewebe wie Haut und Leber, und die Typ-2-5-AR, die vornehmlich in Prostatagewebe vorkommt [35]. Die androgenen Rezeptoren, die für die Vermittlung der hormonellen Wirkung zuständig sind, finden sich vor allem in stromalen Zellen der Prostata und haben somit die entscheidende Rolle für die Vermittlung des androgenabhängigen Prostatawachstums. Durch die Wirkung des Dihydrotestosterons am Androgenrezeptor werden in den prostatistischen Stromazellen die Voraussetzungen für die Zellproliferation im Prostatagewebe geschaffen [35].

In Abbildung 3 wird deutlich, dass ein Ungleichgewicht zwischen Zellwachstum und Zelltod, vermittelt durch das Vorhandensein bzw. Fehlen des DHTs, zur Prostatavergrößerung beitragen kann [35].

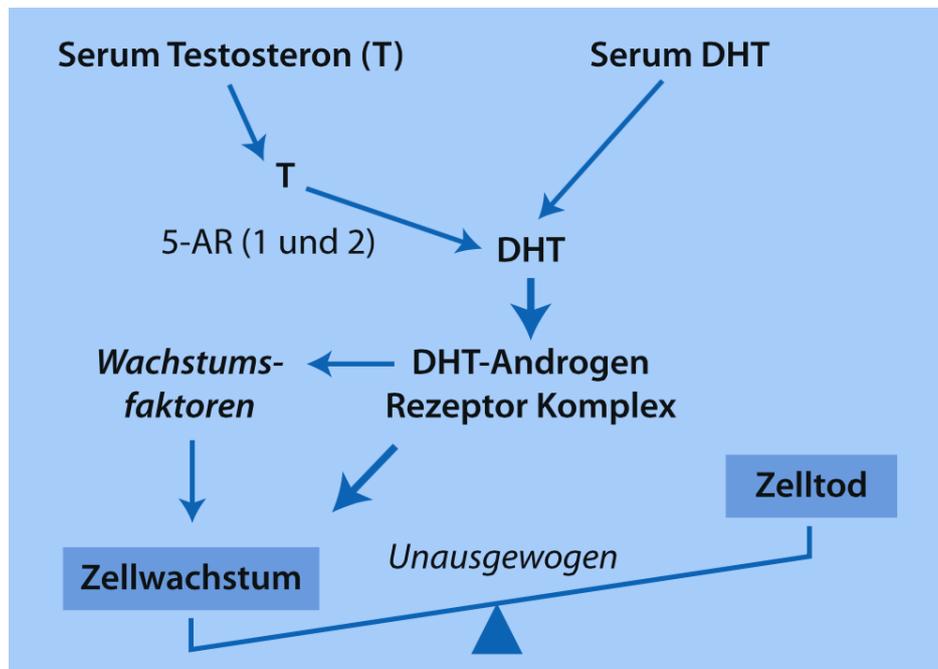


Abb. 3: Hormonelle Regulation des Prostatawachstums [35].

Zusätzlich zur Wirkung des DHTs sind weitere Wachstumsfaktoren wie der „epidermal growth factor“ (EGF), der „insulin-like growth factor“ (IGF) und der „transforming growth factor“ (TGF) für die Zellproliferation zuständig [48]. Laut der Studie von Pollan et al., bei der Wachstumsfaktoren im Zusammenhang mit der Androgentherapie an Mäusen getestet wurde, werden Androgene, wie das DHT, durch Wachstumsfaktoren wie das EGF, IGF und TGF induziert und können auf diesem Wege ein Wachstum der Prostata vermitteln [49].

Ein weiterer Risikofaktor für die Entwicklung der gutartigen Prostatavergrößerung ist die genetische Prädisposition. Um die folgende Studie zur genetischen Prädisposition sinnvoll interpretieren zu können, muss man wissen, dass im Unterschied zu heute 1994, das Jahr aus dem die Studie stammt, noch deutlich häufiger bei BPH eine radikale Prostatektomie durchgeführt wurde. Heutzutage steht bei der BPH eine medikamentöse Behandlung, beziehungsweise mikrochirurgische Eingriffe im Zentrum.

In der Fall-Kontroll-Studie fand man nämlich heraus, dass das Lebenszeitrisiko für die radikale Prostataektomie, also auch für das Auftreten der klinisch-manifesten BPH, bei männlichen Verwandten bei 66 % lag, währenddessen in der Kontrollgruppe das Risiko bei nur 17 % lag, also ein etwa 4-fach erhöhtes Risiko [50]. Die Ergebnisse dieser Studie legen nahe, dass es ein prädisponierendes Gen gibt, welches einem autosomal dominanten Muster folgt, welches bei Männern in Familien mit Häufungen der Erkrankung auftritt [50, 51]. Zusätzlich wurde gezeigt, dass Männer mit erblicher Prostatahyperplasie zu größeren Prostata-Volumina und früherer Manifestation der klinischen Symptome tendieren, als Männer mit sporadischer Form der BPH [52].

Eine vergleichsweise neue Untersuchung der Ätiologie der Prostatahyperplasie zeigt eine Verbindung zu Lifestyle-Faktoren auf [53]. Das Metabolische Syndrom ist als eine Häufung von metabolischen Abnormalitäten definiert, darunter Zuckerunverträglichkeit, Dyslipidämie und Hypertonie. Das metabolische Syndrom wird in der westlichen Welt durch den Lebensstil der Menschen zu einem zunehmenden Problem. Laut einer Studie haben Männer mit den metabolischen Entgleisungen eine deutliche Risikozunahme des Vorkommens von BPH im Vergleich zu Männern ohne diese Faktoren [53, 54].

1.5. LUTS

1.5.1. Terminologie und Allgemeines

Die Bezeichnung „LUTS“ löst die älteren Bezeichnung „Prostatismus“ und „Symptome der BPH“ weitgehend ab. Der Vorteil des neuen Begriffs ist, dass Symptome von männlichen Patienten beim Wasserlassen jetzt unabhängig vom Auslöser dieser Probleme beschrieben werden können [55]. Die Symptome sind somit auch geschlechts- und altersunabhängig definiert, da „LUTS“ sowohl bei jüngeren Patienten als auch bei Frauen, also völlig unabhängig von der Prostatahyperplasie, auftreten können [55].

„LUTS“ ist ein weitreichender Begriff, der alle Symptome des Wasserlassens zusammenbringt: Speicherstörungen, Harnentleerung und Postmiktionsphänome [41].

Geschichtlich gesehen wurden Blasenentleerungsstörungen vor allem im Zusammenhang mit einer Obstruktion des ableitenden Harnweges assoziiert. Die übliche Verbindung bei Männern ist die Vergrößerung der Prostata, die diese Probleme auslöst. Jedoch können identische Symptome auch durch andere Obstruktionen bedingt sein. Das führte zu der Erkenntnis, dass obwohl LUTS oft mit der Blasenentleerungsstörung (BOO) als Ergebnis der benignen Prostata Obstruktion (BPO), die oft einhergeht mit der benignen Prostata Vergrößerung (BPE) als Folge histologischer Veränderungen durch den Umstand der Benigne Prostata Hyperplasie (BPH), in Verbindung gebracht wird, nicht ausnahmslos der Grund sein muss [41]. Nichts desto trotz spielt die Prostatavergrößerung eine zentrale Rolle bei der Entstehung von LUTS.

Da für die vorliegende Arbeit das Verständnis von LUTS fundamental ist, wird im folgenden Abschnitt detailliert auf den Symptomkomplex eingegangen.

1.5.2. Epidemiologie

Die Symptome des unteren Harntrakts sind sehr weit verbreitet und betreffen einen enormen Anteil der Bevölkerung. Eine Studie mit knapp 20.000 Befragten über 18 Jahren ergab, dass rund 13 % der Frauen und 11 % der Männer an Problemen beim Wasserlassen leiden [56, 57]. Weiter fanden Studien heraus, dass mit zunehmendem Alter eine signifikante Steigerung der Verbreitung von Symptomen beim Wasserlassen einhergeht, beginnend bei einem Alter ab 40.

Etwa 40 % der Männer im Alter zwischen 50 und 60 weisen eine BPH auf, 60 % dieser Männer haben die typischen Symptome, die durch eine Obstruktion der Harnwege verursacht wird [42]. Einer Therapie ihrer Symptome müssen sich in Deutschland 5 Mio. Männer unterziehen, wobei diese sich unterscheidet, je nach Kausalität der Symptome in der Blase oder den ableitenden Harnwege [39]. Die überaktive Kontraktilität der glatten Muskulatur in der Blase, welche sich als LUTS einer OAB („over active bladder“) präsentieren, werden durch Anticholinergika behandelt [59-61]. Die Therapie von LUTS bei BPS-Patienten erfolgt mit α_1 -Blockern, die durch Relaxation der glatten Prostatamuskulatur zu Verbesserung der Symptomatik führen kann [42, 62].

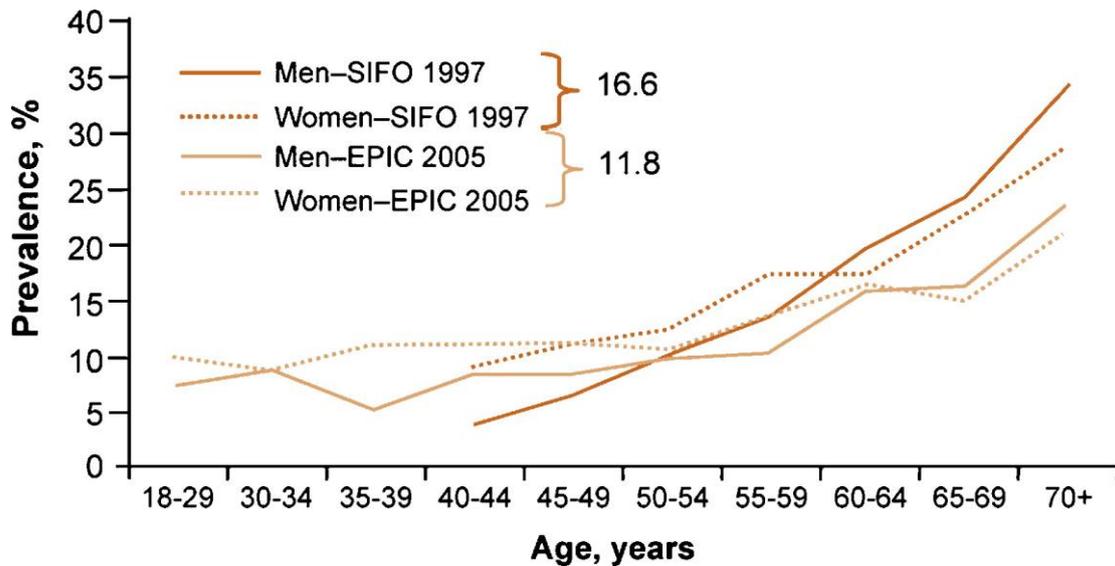


Abb. 4: Prävalenz von „LUTS“ aus Studien der SIFO und EPIC [57, 58].

1.5.3. Pathophysiologie

Der Symptomkomplex der LUTS resultiert aus zwei Umständen, zum einen aus den Speicherstörungen der Blase und zum anderen den Entleerungsstörungen der ableitenden Harnwege.

Die Speicherstörungen, sogenannte „irritative Symptome“, sind auf eine überaktive Blase („over active bladder“, OAB) zurückzuführen [63]. Hier kommt es vermehrt zu spontanen, rhythmischen Kontraktionen der glatten Muskulatur innerhalb der Blasenwand. Obwohl die glatte Muskulatur der Harnblase über alle Muskarinrezeptoren vom Subtyp 1-5 verfügt, wird die physiologische Kontraktion der Harnblasenwand nahezu ausschließlich über den M3 Subtyp vermittelt [64, 65]. Dieser Rezeptor ist an G-Proteine gekoppelt, welche die Hydrolyse von Phosphatidylinoitol-4,5-Bisphosphat durch die Phospholipase C aktivieren. Folge ist die Bildung von Inositol-1,4,5-Trisphosphat, welches zur Freisetzung von intrazellulärem Kalzium führt und somit die Kontraktion der Harnblasenwand steuert [66]. Neuere Studien zeigen, dass der Kalziueinstrom auch über die Aktivierung von Rho-Kinase vermittelt wird [67, 68]. Zusätzlich kommt es im humanen Blasentrigonum durch zusätzliche Aktivierung von α_1 -Adrenorezeptoren ebenfalls zur Kontraktion, vermittelt durch Noradrenalin [66]. Bei altersbedingter Blasenfunktionsstörung kommt es nun zu einer

Reduktion cholinerger Innervation, jedoch gleichzeitiger gesteigerter Sensibilität der verbliebenen Rezeptoren [69, 70]. Es wird angenommen, dass die unregelmäßige Denervierung zu einer gesteigerten Kopplung zwischen den individuellen Muskelzellen und somit zur funktionellen Veränderungen der glatten Muskulatur innerhalb der Harnblasenwand führt [66].

Die Entleerungsstörungen resultieren dagegen aus einer mechanischen Verengung der Harnröhre, welche zu einer Erhöhung des urethralen Widerstandes führt. Dieser Mechanismus kann zu durch Behinderung des Harnstrahls zu Störungen bei der Miktion führen, die Symptome werden als „obstruktive Symptome“ beschrieben [40-42]. Der häufigste Grund für die Verengung der Harnröhre bei Männern des mittleren und oberen Alters ist die benigne Prostata Obstruktion (BPO). Zwei wesentliche Mechanismen sind auf dieser Verengung und die daraus resultierenden Probleme verantwortlich: Erstens die Volumenzunahme der Prostata, die eine rein mechanische urethrale Obstruktion darstellt und als „statische Komponente“ beschrieben wird. Zweitens kommt es zu einem erhöhten Tonus der glatten Muskelzellen der Prostata durch überschießende α_1 -adrenerg ausgelöste Kontraktionen [62, 71]. Dieser Umstand kann ebenfalls zu einer urethralen Obstruktion beitragen und wird als „dynamische Komponente“ bezeichnet [42, 62, 71, 72].

1.5.4. Symptomkomplex

Die Symptome des unteren Harntraktes teilt man ein in irritative Symptome, bei der OAB, und obstruktive Symptome, die bei Verengung der Harnröhre auftreten [41].

Erstere umfassen den imperativen Harndrang mit unterschiedlicher Ausprägung einer Dranginkontinenz, Nykturie, Pollakisurie und Urge-Symptomaik. Beschwerden der Obstruktion äußern sich hingegen durch Start-Schwierigkeiten beim Wasserlassen, abgebrochenem beziehungsweise unterbrochenem Harnstrahl, prolongierte Miktion, Nachträufeln und Restharnbildung [41, 42, 73]. Klinisch gesehen ist die schlimmste Komplikation, die bei Obstruktion der Harnwege auftreten kann, ein lebensgefährlicher Harnrückstau bis in die Nieren. Jedoch auch im Alltag können die Symptome einen großen

Einschnitt in die Lebensqualität von betroffenen Männern sein. Rückzug bis zur sozialen Isolation und Depressionen werden beschrieben [41, 42, 73].

Laut der Studie von Peters et al. treten bei Patienten mit BPH am häufigsten die Probleme bei der Blasenentleerung auf, am störendsten werden jedoch vor allem die Blasenspeicherprobleme empfunden, zu welchen auch Inkontinenz gehören [74].

1.5.5. Stadieneinteilung der LUTS

Der Krankheitswert der LUTS wird in drei Stadien nach Alken eingeteilt [40]:

- Stadium 1: Reizstadium

Es finden sich klinische Symptome wie häufiges Wasserlassen (Pollakisurie), ein abgeschwächter Harnstrahl, Nachträufeln nach der Miktion, prolongierte Miktion, Startschwierigkeiten und nächtliches Wasserlassen (Nykturie). Am Arbeitsplatz und im Privatleben können die Beschwerden beim Wasserlassen schon als störend empfunden werden. Auch das Sexualleben und das allgemeine Wohlbefinden können eingeschränkt sein. Die vorhandenen Symptome führen dazu, dass Patienten schon in diesem Stadium soziales Rückzugverhalten zeigen und soziale Kontakte meiden. Diese Patienten werden überwiegend medikamentös behandelt [11, 35]

- Stadium 2: kompensierte Harnretention

Die klinischen Beschwerden nehmen zu, vor allem die Pollakisurie macht sich deutlich bemerkbar. Die Restharmenge nach der Miktion beträgt 50-100 ml. Durch den Harn, der in der Blase verbleibt, kommt es zu Veränderungen in der Harnblase und zur Detrusorhypertrophie. Es kommt im Fortgang und bei Bestehenbleiben der Abflussbehinderung zur Ausbildung einer Balkenblase („Trabekelblase“), bei welcher die Blasenmuskulatur als verdickte Bündel imponieren. Folglich sinkt die funktionelle Blasenkapazität [75]. Patienten in diesem Stadium werden entweder medikamentös oder operativ behandelt [11].

- Stadium 3: dekompenzierte Harnretention

Zusätzlich zu den Symptomen der Stadien 1 und 2 weist das Stadium 3 eine Restharmenge von über 150 ml auf. Es kommt zu Harnverhalt und einer Überlaufblase (Ischuria paradoxa), welche zu einer verminderten Nierenfunktion bis hin zu Urämie führen kann. Die Nierenschädigung kann in einer terminalen Niereninsuffizienz gipfeln, bei der die Patienten dialysepflichtig werden. Die Therapie besteht aus einer sofortigen Entlastung des oberen Harntraktes durch die Anlage eines suprapubischen Blasenkatheters. Erst nach Normalisierung des akuten Zustandes kann zur Therapie der Ursache übergegangen werden [11].

1.5.6. Diagnostik

Bei der Diagnostik der LUTS bei einem BPS steht eine Vielzahl von Untersuchungen zur Verfügung, wobei sich ein Algorithmus etabliert hat. Grundsätzlich unterschieden wird zwischen einer Basisdiagnostik und einer erweiterten, speziellen Diagnostik. Im Folgenden wird speziell auf die Diagnostik bei Verdacht auf BPS mit LUTS eingegangen.

Zur Basisdiagnostik gehören eine gründliche Anamnese mit einer körperlichen Untersuchung, sowie die Analyse von Urin und PSA. Zusätzlich wird eine validierte Einschätzung der Symptome und der Einschränkung der Lebensqualität des Patienten erhoben. Hierzu stehen diverse Fragebögen zur Verfügung, von denen der IPSS (International Prostate Symptom Score) am weitesten verbreitet ist [35].

Die Anamnese ist eines der wichtigsten Mittel um mögliche Erkrankungen zu erkennen. Bei aktuellen Miktionsbeschwerden muss vor allem die Abklärung möglicher extraprostatischer Ursachen abgeklärt werden, um nicht voreilige Schlüsse bezüglich der Herkunft der Probleme zu ziehen [35]. Im Gespräch ist auf vorangegangene chirurgische Eingriffe und Begleiterkrankungen zu denken, die mit den Miktionsbeschwerden zusammenhängen können (z. B. Neurogene Blasenfunktionsstörung nach Rektumchirurgie oder Morbus Parkinson). Auch eine ausführliche Befragung zu Medikamenten kann zielführend sein. Die typischen Symptome wie Nykturie, Harnwegsinfektionen und das Auftreten von Harnverhalt sollten gezielt abgefragt werden [35].

Bei der körperlichen Untersuchung ist eine orientierende Untersuchung des Abdomens durchzuführen, sowie die Untersuchung des äußeren Genitale. Nach kurzer Aufklärung sollte eine digitale rektale Untersuchung durchgeführt werden. Diese Untersuchung liefert Information über die Größe und Beschaffenheit der Vorsteherdrüse. Vor allem Vergrößerungen der Prostata, karzinomverdächtige Areale und der Sphinktertonus können durch die DRU ertastet werden und liefert wichtige Informationen für die weiteren Schritte der Diagnostik [35].

Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Urinuntersuchung. Die Urin-Stix Analyse gehört zur grundlegenden Diagnostik dazu und ist sowohl kostengünstig als auch nichtinvasiv und einfach durchzuführen. Um die Herkunft möglicher Pathologien einschränken zu können sollte auch zumindest eine Mikrohämaturie ausgeschlossen werden und eine Untersuchung zur akuten Harnwegsinfektionen durchgeführt werden, da LUTS nicht nur durch die benigne Prostata Obstruktion verursacht werden können sondern auch durch Harnwegsinfekte und Blasen Tumoren [35].

Der PSA-Test wird durchgeführt, um eine gutartige Prostatavergrößerung von einem möglichen Prostatakarzinom frühzeitig zu unterscheiden, da beide zum klinischen Bild der LUTS führen können. Natürlich können beide Entitäten auch parallel bestehen, deshalb sollte vor einer Therapie des BPS das Vorliegen eines Karzinoms ausgeschlossen werden, einerseits um keinen Tumor zu übersehen, andererseits um zu vermeiden, dass die Entdeckung eines Malignoms die Therapie des BPS beeinflussen würde [35]. Der PSA-Wert muss immer im Zusammenhang mit der Anamnese, dem Alter und der aktuellen Medikation interpretiert werden, da alle Faktoren den Wert beeinflussen und so zu Fehlinterpretationen führen können [35].

Der International Prostate Syndrom Score (IPSS) ist ein international standardisierter Fragebogen, der es ermöglicht, die Ausprägung der Beschwerden durch die LUTS zu ermitteln und die Patienten zu kategorisieren. Der Fragebogen ist weit vergleichbar, validiert und wird international als Standardfragebogen bei BPS eingesetzt. Der Punktescore, welcher maximal 35 Punkte beträgt, lässt eine Untergliederung der Patienten in drei Gruppen zu:

- milde Symptomatik (0-7 Punkte)
- mittelschwere Symptomatik (8-19 Punkte)
- schwere Symptomatik (20-35 Punkte)

Der IPSS wird vor allem zur Erfolgskontrolle der eingeschlagenen Therapie und als Kontrolle der Nachsorge im Verlauf der Erkrankung benutzt. Anhand des IPSS eine Erstdiagnose zu stellen ist jedoch nicht möglich [35].

Die spezielle Diagnostik wird bei jenen Patienten durchgeführt, bei welchen nach der Basisdiagnostik keine zufriedenstellende Diagnose gestellt werden konnte. Auch Patienten bei welchen im Verlauf der Erkrankungen Veränderungen der Symptome auftreten oder Überlegungen zu chirurgischen Maßnahmen anstehen, sollten einer spezifische Diagnostik unterzogen werden [35, 76]. Die speziellen diagnostischen Maßnahmen bestehen aus der Uroflowmetrie, einer Ultraschalluntersuchung, der Restharnmessung, der Urodynamik, einer Urethrozytoskopie und bildgebenden Verfahren.

Eine nichtinvasive Methode zur elektronischen Messung des Harnstrahls ist die Uroflowmetrie. Das Miktionsvolumen sollte mindestens 150 ml betragen, um aussagekräftig zu sein. Als Kurve dargestellt kann man ablesen, ob die Flussrate eingeschränkt ist oder nicht. Gleichzeitig werden verschiedene Parameter wie der durchschnittliche (Q_{ave}) und maximale Harnfluss (Q_{max}) in ml/s aufgezeichnet. Anhand der Kurve und den Parametern kann man ableiten, ob eine Obstruktion besteht und teilweise auch wo diese liegt [35, 76].

In der Diagnostik des BPS und der LUTS ist die sonographische Untersuchung von Nieren, Blase und Prostata obligat. Es können renale Abflussbehinderungen, Restharnbestimmungen der Blase, so wie eine Beurteilung der Blasenwand durchgeführt werden. Vor allem die sonographisch gemessene Detrusordicke kann Aufschluss über eine obstruktive Genese der Symptomatik geben [35]. Bei der Sonographie der Prostata gilt der transrektale Ultraschall als Goldstandard. Hierbei kann die Prostata im Longitudinal- und Transversalschnitt betrachtet werden und eine Aussage über das Volumen getroffen werden. Suspekte, hypoechogene Areale können erkannt werden und erlauben zusammen mit dem PSA-Wert und der DRU

einen Ausschluss beziehungsweise eine Aussage über die Wahrscheinlichkeit eines Karzinoms [35].

Die Bestimmung der Restharmenge ist ein wichtiger Baustein der BPS Diagnostik. Bei gesunden Männern beträgt diese unter 12 ml. Es gibt zwei Methoden die Restharmenge zu bestimmen [35]:

1. Sonographische transabdominale Restharmessung;
2. Messung des Restharnvolumens über eine Einmalkatheterisierung (invasive Alternative).

Die Untersuchung der Restharmenge gehört sowohl zur Untersuchung bei Erstdiagnostik, als auch zur Verlaufskontrolle.

Bei der Durchführung einer urodynamischen Testung (Urodynamik) kann reproduzierbar zwischen Patienten mit obstruktiv bedingter Harnstrahlabschwächung und Patienten mit eingeschränkter Detrusorfunktion unterschieden werden. Hierbei wird nach vollständiger Entleerung der Blase die Blase retrograd über einen Katheter mit körperwarmen Medium bis zum starken Harndrang gefüllt. Kontinuierlich werden der intravesikale Druck über einen suprapubischem oder transurethralem Messkatheter und der abdominelle Druck über eine Sonde im Rektum registriert. Der Detrusordruck kann so als Differenz des intravesikalen Drucks und abdominellen Drucks errechnet werden [35, 76].

Die Urethrozystoskopie ist kein Standardverfahren bei der Diagnostik der LUTS, trotzdem kann sie bei ausgewählten Patienten wichtige Zusatzinformation für die Therapieentscheidung liefern. Bei diesem Verfahren wird die Harnröhre und Harnblase endoskopisch untersucht. Hierbei kann bei diversen Vorerkrankungen (z.B. Urothelkarzinom) oder vorangegangener Manipulation (z. B. Voroperationen, Katheteranlage) die Harnröhre direkt beurteilt werden und so, abhängig vom Ergebnis dieser Untersuchung, auf die Durchführbarkeit bestimmter Therapieverfahren geschlossen werden [35].

Radiologische Bildgebung liefert nur limitierte Zusatzinformationen und wird deshalb äußerst selten bei Patienten durchgeführt. Ausnahme stellt die Hämaturie dar, bei welcher Tumoren des Harntraktes ausgeschlossen werden müssen. Außerdem ist der Ultraschall die erste Wahl zur Beurteilung der Abflussverhältnisse [35].

1.6. Therapie von LUTS und BPS

Bei der Therapie von LUTS bei BPS gibt es mehrere Varianten und verschiedene Optionen, auf die im folgenden Abschnitt näher eingegangen wird. Generell liegt das primäre Therapieziel in der raschen Reduktion der störenden Symptome und in der Verbesserung der Lebensqualität. Jedoch ist die Hemmung der BPS-Progression ein wichtiges längerfristiges Behandlungsziel. Um diese Therapieziele zu erreichen, unterscheidet man grundsätzlich im klinischen Alltag konservative Herangehensweisen, wie das kontrollierte Zuwarten und die medikamentöse Therapie, von operativen Ansätzen [4, 35, 42, 77-79].

1.6.1 LUTS-Therapie: Allgemeines

Therapiert werden einerseits Entleerungsstörungen, die durch eine Obstruktion der Harnröhre durch die Prostata hervorgerufen werden und andererseits Speicherstörungen, die durch eine OAB ausgelöst werden, wie oben beschrieben. Die Entscheidung, welche Therapieoption gewählt wird, konservativ oder operativ, ist abhängig davon, wie ausgeprägt die Symptome sind und ob relevante BPO- oder BPS-bedingte Komplikationen vorliegen. Es wurden zusätzlich absolute Operationsindikationen festgelegt, um die Entscheidung des einzuschlagenden Therapiewegs zu vereinheitlichen [4]. Absolute Operationsindikationen sind:

- Blasensteine
- Rezidivierende Harnverhalte
- Rezidivierende Blaseninfektionen
- Makrohämaturie, konservativ nicht beherrschbar

- Niereninsuffizienz auf Grund einer BPO
- Dilatation des oberen Harntraktes

Die medikamentöse Behandlung eines BPS mit LUTS ist dann indiziert, wenn keine der absoluten Operationsindikationen gegeben ist [4, 42]. Das Versagen der medikamentösen Therapie oder das Vorliegen einer signifikanten BPO werden als relative Operationsindikationen definiert. Als dritte Option, neben den oben genannten Möglichkeiten, gilt das kontrollierte Zuwarten („Watchful Waiting“) [42]. Alle drei Therapieansätze werden im Folgenden ausführlich besprochen.

1.6.2. Kontrolliertes Zuwarten und Verhaltenstherapie

Bei Patienten mit geringem Leidensdruck (IPSS >7) und vorerst ohne Veränderungen des Lebensstils auf Grund der Erkrankung sollte die Strategie des kontrollierten Zuwartens in Erwägung gezogen werden [35]. Einige Daten von Studien sprechen dafür, dass es beim unbehandelten BPS zu langfristigen Remissionen von 20-30 % der Patienten kommen kann [80]. Zusätzlich gibt es Studien, die das Risiko für eine Progression des BPS (z. B. akuter Harnverhalt) als gering einschätzen [81, 82]. Die Strategie des kontrollierten Zuwartens wird außerdem nach Auswertung der Daten populationsbasierter Beobachtungsstudien empfohlen [83, 84].

Laut einer Studie publiziert im *New England Journal of Medicine* wird Männern mit moderaten Symptomen des BPS zu einer chirurgischen beziehungsweise medikamentösen Behandlung geraten und nicht zum kontrollierten Abwarten, da dieses ein schlechtes Outcome für Behandlungsfehler und schlechtere Ergebnisse im Hinblick auf die Verbesserung der urologischen Symptome aufweist [84]. Für Patienten mit geringen Symptomen, die nur sehr gering eingeschränkt sind in ihrem Alltag, oder die den chirurgischen Eingriff hinauszögern wollen, stellt das Kontrollierte Zuwarten jedoch eine sichere Alternative dar [84].

Zur Verhaltenstherapie beim „Watchful Waiting“ ist zu sagen, dass Patienten dazu geraten wird, eine spätabendliche Trinkmengenreduktion einzuhalten, um Nykturie vorzubeugen.

Ebenso kann eine Reduktion von Kaffee und Alkohol zu einer Verminderung der irritativen Symptomatik führen. Zusätzlich kann ein Blasentraining durchgeführt werden, um die Speicherfähigkeit der Blase aufrecht zu erhalten. Das „Ausstreichen“ der Harnröhre nach der Miktion kann zur Verhinderung des Nachträufelns beitragen [4]. Jedoch sollte eine regelmäßige Verlaufskontrolle eingehalten werden, um eine Progression der Erkrankung frühzeitig zu erkennen. Bei Zunahme der Restharnmenge und Verschlechterung der Symptomatik wird empfohlen, die Therapie zu erweitern [35].

1.6.3. Medikamentöse Therapieoptionen

Es steht eine Vielzahl von Medikamenten zur Therapie der LUTS bei BPS zur Verfügung. Jedoch ist allen Substanzen gemeinsam, dass sie nur bedingt eine wirkliche Deobstruktion der Harnröhre bewirken, als vielmehr eine symptomorientierte Therapie darstellen [35]. Auf die verschiedenen Substanzklassen wird im Folgenden eingegangen.

Phytotherapeutika

Zu dieser Klasse gehören unter anderem Kürbiskern-Extrakte, Sägezahnpalmenfrüchte oder Brennnesselwurzeln. Obwohl die Einnahme dieser Präparate durchaus populär ist, fehlen größtenteils Placebo-kontrollierte Wirksamkeitsstudien [4, 35]. Laut Leitlinie der Deutschen Urologischen Gesellschaft kann aufgrund der Heterogenität der einzelnen Präparate und der widersprüchlichen Studienergebnis-Lage keine abschließende Empfehlung für die Verabreichung von Phytotherapeutika zur Therapie des BPS gegeben werden [4, 85, 86]. Nach Einnahme bestimmter Präparate erhielten einige Patienten durchaus geringere Punktzahlen im IPSS, die Lebensqualität, der Q_{\max} , das Prostatavolumen sowie die Restharnmenge blieben jedoch unbeeinflusst [4, 35].

Nebenwirkungen bei Einnahme von Phytotherapeutika sind sehr selten und bei Vorkommen mild [4, 87]. Zusammenfassend ist zu sagen, dass es bisher keine Belege für einen Einfluss der Phytotherapeutika auf die BPS-Progression gibt, daher kommen diese Substanzen nur in Frage bei milden Beschwerden mit geringem Leidensdruck ohne Obstruktion [4].

Deutsche Bezeichnung	Lateinische Bezeichnung
Früchte der Sägezahnpalme	Sabal serrulata, Serenoa repens
Südafrikanisches Sternengras	Hypoxis rooperi
Phytosterole, Wurzeln von Pinien und Kiefern	
Brennesselwurzel	Urtica dioica
Kürbiskerne	Cucurbita pepo
Pollenextrakte	z.B. Roggenpollen (Secale cereale)
Rinde des Afrikanischen Pflaumenbaums	Pygeum africanum

Tab. 2: Herkunft und Inhalte von Pflanzenextrakten, die am Häufigsten zur Behandlung des BPS verwendet werden

α_1 -Adrenozeptorantagonisten (α -Blocker)

α -Blocker sind die am Häufigsten verwendeten Medikamente zur Behandlung von LUTS bei BPS in Deutschland [88]. Die Medikamente führen bei vielen Patienten zur raschen Reduktion der störenden Symptome und zur Hemmung der symptomatischen Verschlechterung. Die langfristige Effizienz der Therapie ist abhängig vom Prostatavolumen bei Therapiestart. Je größer dieses Volumen, desto kürzer die Langzeiteffizienz der α -Blocker [4].

Zur Verfügung stehen folgende Präparate:

Substanz	t_{\max} [Stunden]	$t_{1/2}$ [Stunden]	Empfohlene Tagesdosis
Alfuzosin IR	1,5	4-6	3 x 2,5mg
Alfuzosin ER	3	8	2 x 5mg
Alfuzosin XL	9	11	1 x 10mg
Doxazosin IR	2-3	20	1 x 2-8mg
Doxazosin GITS	8-12	20	1 x 4-8mg
Silodosin	2,5	11-18	1 x 4-8mg
Tamsulosin MR	6	10-13	1 x 0,4mg
Tamsulosin OCAS	4-6	14-15	1 x 5-10mg
Terazosin	1-2	8-14	1 x 5-10mg

Tab. 3: In Deutschland zugelassene α_1 -Blocker (Originalsubstanzen), mit pharmakokinetischen Eigenschaften, zur Behandlung des BPS (t_{\max} = Zeit bis zur maximalen Plasmakonzentration; $t_{1/2}$ = Plasmahalbwertszeit; IR = immediate release; ER = extended release; MR = modified release; GITS = gastro-intestinal therapeutic system; OCAS = oral controlled absorption system).

Die Substanzen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer pharmakokinetischen Eigenschaften und ihrer unterschiedlichen Selektivität auf die Subtypen von α_1 -Rezeptoren. Diese Unterschiede führen zu Auswirkungen auf die Einnahmefrequenz und Verträglichkeit der verschiedenen Substanzen [89].

Im menschlichen Körper existieren drei verschiedene Subtypen von α_1 -Rezeptoren auf glatter Muskulatur, die in unterschiedlicher Dichte exprimiert werden: α_{1A} -, α_{1B} - und α_{1D} -Adrenorezeptoren [90]. Der Großteil der α_1 -Blocker in der Therapie der LUTS bei BPS sind unspezifisch für die Adrenorezeptor-Subtypen. Ausnahmen stellen Silodosin, mit hoher Selektivität für α_{1A} -Adrenorezeptoren, und Tamsulosin, mit α_{1A} - und geringer α_{1D} - Präferenz,

dar [73]. Hinsichtlich des Wirkmechanismus wird angenommen, dass α_1 -Blocker über die Hemmung des α_{1A} -Adrenorezeptor zur Reduktion des Tonus der glatten Muskulatur in den ableitenden Harnwegen (unterer Blasenhal, Prostata und Harnröhre) führt. Neuere Studien aus urodynamischen Untersuchungen weisen allerdings auf, dass die symptomatische Verbesserung nur einen geringen Zusammenhang mit einer Verbesserung der BOO hat. Die Studien zeigen, dass α_1 -Blocker nur einen eingeschränkten Einfluss auf den BOO-Grad besitzen [91, 92]. Es wird deshalb angenommen, dass die Blockierung anderer α_1 -Rezeptoren, zum Beispiel α_{1D} in der Harnblase oder α_{1A} im zentralen Nervensystem, ebenfalls eine Rolle bei der Reduktion der LUTS spielen [93, 94].

Die Therapie mit den genannten Substanzen hat einen positiven Effekt auf die störende Symptomatik und führt deshalb zu einer Verbesserung der Lebensqualität. Innerhalb weniger Tage nach Therapiebeginn mit α -Blockern ist eine Symptomreduktion festzustellen, gemessen am IPSS-Fragebogen [95]. In randomisierten, Placebo-kontrollierten Studien wurde bewiesen, dass alle α_1 -Blocker zu einer signifikante Reduktion von LUTS führen, im Vergleich zu Baseline und Placebo [86]. Die Verbesserungen, die am IPSS gemessen wurden, betragen in den verschiedenen Studien 1-4 Punkte [73, 86]. Zwischen den einzelnen α_1 -Blockern bestehen keine signifikanten Unterschiede, alle Präparate sind folglich bei vergleichbaren Dosierungen gleich wirksam [96].

α -Blocker haben auf lange Sicht gesehen ausschließlich einen Einfluss auf die Symptomatik, sowohl die Prostatagröße, als auch den Harnverhalt und die Notwendigkeit einer Prostataoperation sind unabhängig von der Therapie mit diesen Substanzen [97]. Die Therapie hat hinsichtlich der Progression der Erkrankung nur einen positiven Effekt auf die Reduktion der symptomatischen Verschlechterung [97, 98].

Gegen eine langfristige erfolgreiche Therapie sprechen Daten aus randomisierten Studien, welche offenbaren, dass die Symptomlinderung bei Patienten mit einem Prostatavolumen >30 ml nach 4 Jahren nachlässt [98]. Aufgrund fehlender Alternativen zu den α -Blockern, aber steigendem Einschnitt in die Lebensqualität müssen sich diese Patienten meist einem invasiven Eingriff mit teils gravierenden Risiken unterziehen.

Es gab zahlreiche Studien zu den verschiedenen Präparaten, dabei wurde vor allem die Wirkung der α_1 -Blocker auf die Veränderungen der BOO untersucht [99-112]. Trotz Verbesserung der objektiven Parameter wie Uroflow und Q_{\max} , lassen die Ergebnisse der Studien darauf schließen, dass der Einfluss der α -Blocker auf die BOO generell gering ist. Zusätzlich bleibt die Prostatagröße während der Therapie mit α -Blockern unbeeinflusst [97].

Die unterschiedlichen Präparate weisen unterschiedliche Nebenwirkungsprofile auf, auf die individuellen Unterschiede wird in dieser Arbeit nicht speziell eingegangen. Mögliche Nebenwirkungen von α_1 -Blockern sind Schwindel, Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Kopfschmerz, Diarrhoe, grippale Symptome, Schwellung der Nasenschleimhaut, hypotone Dysregulation und Synkopen [86]. Begleitmedikationen mit Diuretika, β -Blockern, Calciumantagonisten oder ACE-Hemmer können zusammen mit den α -Blockern der BPS-Therapie zur Verstärkung der kardiovaskulären Nebenwirkungen führen [113]. Auch Ejakulationsstörungen sind, insbesondere für Silodosin, nachgewiesen worden [73, 114]. Als „Intraoperative floppy iris syndrome“ wird der Effekt benannt, bei welchem Tamsulosin während Kataraktoperationen eine spannungsarme und mobile Iris verursachen kann und so die Augenoperation technisch schwieriger gestalten kann [115]. Im Unterschied zu oben genannten Nebenwirkungen scheint dieses Phänomen allerdings irreversibel zu sein [116].

5 α -Reduktasehemmer (5ARIs)

Als Therapiealternative zu den α -Blockern stehen die 5 α -Reduktasehemmer zur Verfügung. Indiziert sind diese Präparate ab einem Prostatavolumen von 30-40 ml zur Symptomreduktion und Progressionshemmung [4]. Im Unterschied zu den α -Blockern tritt eine relevante Symptomreduktion erst nach mehreren Monaten der Behandlung ein. Eine Therapie mit 5ARIs wird daher als Langzeittherapie empfohlen [4].

Als Präparate stehen Dutasterid und Finasterid zur Auswahl. Beide wirken über die Inhibition von DHT, welches normalerweise die Effekte an der Prostata vermittelt. Die Präparate unterscheiden sich in ihren pharmakokinetischen Eigenschaften und ihrer Selektivität für Isoenzyme [4].

Testosteron wird durch das Steroidhormon 5α -Reduktase zum stärker wirksamen Dihydrotestosteron umgewandelt. Die Aktivierung von Androgenrezeptoren durch das DHT ist für das Prostatawachstum und die Entstehung von BPH der treibende Faktor [4, 42]. Dieses Hormon liegt im Körper als zwei verschiedene Isoenzyme vor, Typ 1 und Typ 2 [117]. Dutasterid hemmt beide Isoenzyme, während Finasterid nur Typ 2 hemmt. 5 ARIs führen über die Hemmung des Stimulus von DHT auf die Prostata zum irreversiblen Zelluntergang durch enzymatisch gesteuerte Induktion der Apoptose. Dieser Zelluntergang vermindert sowohl das Prostatavolumen als auch das weitere Prostatawachstum, was zur Verbesserung der LUTS führt [4]. Im Schnitt führt die Therapie nach einer Behandlungsdauer von 6-12 Monaten zu einer Größenreduktion von 18-28 % und zusätzlich zu einer Halbierung der Serum-PSA-Werte [118]. Die therapeutische Wirksamkeit der beiden Präparate ist vergleichbar [78, 80, 119]. Beide Medikamente weisen in Studien nach 6-monatiger Therapie eine signifikante Verminderung der LUTS-Beschwerden um etwa 30 % auf, zusätzlich zu einer Senkung des Prostatavolumens um bis zu 25 % [4, 42, 80, 119].

Das Nebenwirkungsprofil der 5ARIs ist relativ gering: Libidoverlust, erektile Dysfunktion, Gynäkomastie, sowie eine Abnahme des Ejakulatvolumens gehören allerdings zu den häufigsten unerwünschten Arzneimittel Wirkungen bei Therapie. Laut Studien lassen die Nebenwirkungen über die Zeit nach [120].

Vergleich zwischen α_1 -Blockern und 5α -Reduktase-Hemmern

Untersuchungen, welche Präparate beider Klassen miteinander verglichen, ergaben eine geringfügige stärkere Symptomreduktion zugunsten der α_1 -Blocker. Zusätzlich existieren Hinweise darauf, dass Patienten mit der α -Blocker Therapie eine höhere Lebensqualität besitzen im Vergleich zu Patienten mit der 5ARIs-Therapie [98, 120]. Im Gegensatz dazu zeigten Untersuchungen an Patienten mit initial vergrößerten Prostaten nach 2-4 Jahren eine bessere Symptomreduktion zugunsten der 5α -Reduktasehemmern [98, 121]. Die Wahl der Therapie wird deshalb individuell für jeden Patienten getroffen.

Muskarinrezeptorantagonisten (Antimuskarinika)

Muskarinrezeptorantagonisten werden synonym auch als m-Cholinozeptor-Antagonisten bezeichnet, die Begrifflichkeit „Anticholinergica“ sollte jedoch vermieden werden, da die Spezifität auf muskarinische Rezeptoren fehlt [4]. Diese Präparate sind in Deutschland primär zur Behandlung von Symptomen der OAB zugelassen. Allerdings zeigen Patienten mit BPS neben den typischen Blasenentleerungsstörungen („obstruktive Symptome“) auch häufig Blasenspeichersymptome („irritative Symptome“), weshalb in den letzten Jahren Untersuchungen über den Einsatz von Muskarinrezeptorantagonisten bei Patienten mit symptomatischer BPS durchgeführt wurden.

Als Präparate stehen Darifenacin, Fesoterodin*, Oxybutynin*, Propiverin*, Solifenacin*, Tolterodin* und Trosipium zu Verfügung. Für einige diese Präparate, markiert mit *, wurden Studien zu Verbesserung der LUTS durchgeführt. Dabei wurden dieselben Dosierungen zu Grunde gelegt, welche auch für die Therapie der OAB benutzt werden [4].

Der menschliche Körper verfügt über 5 verschiedene Muskarinrezeptor-Subtypen (M_1 - M_5), wobei in der humanen Harnblase vor allem M_2 - und M_3 - Rezeptoren nachgewiesen wurden [122, 123]. Insbesondere die Aktivität des M_3 -Rezeptors scheint die dominierende Rolle für die Detrusorkontraktion zu spielen [123]. Die pharmakologische Hemmung der Rezeptoren, insbesondere des M_3 -Subtyps, kann zu einer Reduktion spontaner, unkoordinierter Detrusorkontraktionen, sogenannten „Micromotions“, beitragen [124, 125]. Zusätzlich wirken Antimuskarinika am afferenten Schenkel des Miktionsreflexes und beeinflussen auf diese Weise positiv die Blasensensorik.

Es wurden Studien der Effektivität von Muskarinrezeptorantagonisten bei Patienten mit LUTS und relevanter Blasenspeichersymptomatik durchgeführt. Nach 12 Wochen der Therapie konnte eine signifikante Reduktion bei der Miktionsfrequenz pro 24 Stunden, der Dranginkontinenz und Miktionen mit starkem Harndrang nachgewiesen werden [126-128]. Zusätzlich kam es zu einer Abnahme der Anzahl der nächtlichen Miktionen (Nykturie) und des IPSS Gesamtwerts [128]. In einer post hoc Analyse wurde ermittelt, dass speziell Patienten mit niedrigen PSA-Werten zu Therapiebeginn von einer antimuskarinergen

Therapie profitieren [129]. Allerdings zeigen alle Studien bis zum Jahr 2012 keine ausreichenden Belege für eine Verbesserung der Lebensqualität im Vergleich zu placebo-behandelten Patienten [126, 128].

Bei der Einnahme von Antimuskarinika kann es zu Nebenwirkungen kommen. Mundtrockenheit, Obstipation, Diarrhoe, Dyspepsie, Schwindel, Ermüdung, Somnolenz, Kopfschmerzen, Ejakulationsversagen, verstopfte Nase und Harnverhalt sind die häufigsten UAWs [128].

Phosphodiesterase-Inhibitoren (PDE5-Inhibitoren)

Stickstoffmonoxid (NO) wird in verschiedenen Geweben synthetisiert und ist ein Neurotransmitter. Er wird mit Hilfe der NO-Synthase aus der Aminosäure L-Arginin hergestellt. NO kann nach intrazellulär diffundieren und regt dort die Synthese von cyclischen Guanosin-Monophosphaten (cGMP) an [4]. Das cGMP aktiviert Ionenkanäle, cGMP-abhängige Phosphodiesterasen und Proteinkinasen, die zu einer Relaxation von glatten Muskelzellen führen, zum Beispiel im unteren Harntrakt [130]. PDEs bauen zyklische Nukleotide (cGMP, cAMP), daher kann durch die Inhibierung der PDEs die intrazelluläre Konzentration von cGMP erhöht werden, und so eine glattmuskuläre Relaxation herbeigeführt werden [4].

Zugelassene PDE5-Inhibitoren sind Sildenafil, Tadalafil und Vardenafil. Diese werden zur primär zur Therapie der Erektile Dysfunktion eingesetzt, beziehungsweise zur Therapie der pulmonalen arteriellen Hypertonie (Sildenafil) [4].

Obwohl urodynamisch keine messbaren Auswirkungen nachgewiesen wurden, zeigte sich für alle Präparate eine Verbesserung der Symptomatik um 17-35 % im IPSS in placebo-kontrollierten Studien [131-133]. Die Studie von Gacci et al. zeigt, dass die Gabe von PDE5-Inhibitoren zur signifikanten Verbesserung der Symptome des unteren Harntraktes und parallel der erektilen Dysfunktion bei Männern mit BPH führen kann [134]. Für Tadalafil

erfolgte kürzlich die Zulassung für die Behandlung von Männern mit BPS/LUTS sowie von BPS/LUTS/ED (komorbide Patienten).

Das Nebenwirkungsprofil der PDE5-Inhibitoren besteht aus Kopfschmerzen, Dyspepsie, Hitzewallungen, gastro-ösophagealem Reflux und Kreuzschmerzen [134].

Kombinationstherapie

Die Kombination verschiedener Medikamente mit unterschiedlichen Angriffspunkten kann die Wirksamkeit der Therapie steigern und die Progression der Erkrankung bremsen [42]. Empfohlen wird die Kombinationstherapie für Patienten mit moderaten/ausgeprägten Miktionsbeschwerden verbunden mit einem erhöhten Progressionsrisiko [4]

Eine Kombinationstherapie sollte erfolgen, wenn eine Monotherapie mit α_1 -Blockern nicht mehr ausreicht (z. B. bei Progression nach mehrjähriger Therapie) [4, 42, 78-80, 119]. Die übliche Kombination besteht im klinischen Alltag aus α -Blockern und 5 α -Reduktase-Hemmern [4, 42]. Die Attraktivität der Kombination beruht auf den klinischen Vorteilen der Einzelsubstanzen: Einerseits dem raschen Wirkeintritt der α_1 -Blocker und andererseits dem positiven Effekt der 5 α -Reduktase-Hemmer auf die Krankheitsprogression [4].

Es konnte nach einjähriger Anwendung der Kombinationstherapie mit α -Blockern und 5 α -Reduktase-Hemmern keine Verbesserung der LUTS gegenüber einer Monotherapie mit α -Blockern festgestellt werden [42, 78, 79]. Erst nach langfristiger Anwendung konnte eine signifikante Verbesserung der Symptome bei BPS beobachtet werden [4, 42, 78-80, 119].

Trotz additiver Effekte der Einzelsubstanzen ist die Nebenwirkungsrate moderat [97, 121, 135-137].

1.6.4. Neue medikamentöse Therapieoptionen

Es gibt einige neue medikamentöse Optionen für die Therapie der LUTS, dazu zählen Agonisten für den β_3 -Adrenozeptor, sowie Botulinum Toxine.

β_3 -Adrenozeptoren-Agonisten

Neben β_1 - und β_2 -Adrenozeptoren besitzt der Mensch die weniger bekannten β_3 -Adrenozeptoren. Im unteren Harntrakt wird die Relaxation der glatten Muskulatur vor allem über β_2 - und β_3 -Adrenozeptoren vermittelt, wohingegen die Funktion des β_1 -Adrenozeptors eine untergeordnete Rolle spielt [90, 138]. Die Relaxation, welche über die β -Rezeptoren vermittelt wird, führt in der Blase zu einer Verbesserung der Urinspeicherung. Die Funktion der β -Rezeptoren der Harnröhre und Prostata sind hingegen noch nicht ganz verstanden [90, 138]. Der β_3 -Adrenozeptor-Agonist Mirabegron wurde zur Behandlung der überaktiven Blase (OAB) zugelassen. Obwohl es randomisierte kontrollierte Studien zur Behandlung mit diesem Präparat gibt, stehen Langzeit-Erfahrungen noch aus [139, 140].

Botulinum Toxin (BTX)

Die intraprostatiche Injektion von Botulinumtoxin Typ A (BoNT/A) ist ein invasiv-medikamentöser Therapieansatz. Es stehen verschiedene Präparate zur Verfügung, darunter Botox, Dysport, Xeomin, Prosigne und PurTox. Diese unterscheiden sich in Dosierung, Wirkungsgrad, Wirkdauer und Sicherheitsprofil [141, 142]. Für keines der Präparate steht derzeit eine Zulassung zur prostatistischen Injektion vor, somit ist die Injektion „off label“.

Das Toxin wirkt über eine Hemmung der Neurotransmission an den neuro-muskulären Synapsen, indem es die präsynaptische Freisetzung von Acetylcholin hemmt [143]. Dieser Vorgang scheint in Tierversuchen zu einer Reduktion intraprostaticher Sympathikusaktivität mit Aktivierung apoptotischer Prozesse zu führen [144]. Der Eingriff wird auch am Klinikum Großhadern häufig durchgeführt.

1.6.5. Nicht-medikamentöse Therapieoptionen

Es gibt eine Reihe von nicht-medikamentösen Optionen für die Behandlung des BPS, die zusammen mit dem „Watchful Waiting“ und den medikamentösen Ansätzen die Palette der BPS-Therapien vervollständigen. Neben den beiden etablierten Verfahren, transurethrale Resektion der Prostata und offener Adenomnukleation, gab es in den letzten Jahren eine enorme Zunahme der instrumentellen Therapiemöglichkeiten, allen voran die minimal-invasiven Verfahren und die Laserverfahren [4].

Die Datenlage für die unterschiedlichen Methoden ist äußerst heterogen, was dazu führt, dass es heutzutage keine Standardmethode mehr gibt. Gemeinsam mit dem Patienten werden die unterschiedlichen Möglichkeiten diskutiert, um dann die individuell am besten passende Option auszuwählen. Im Folgenden wird auf die unterschiedlichen Verfahren detailliert eingegangen.

Transurethrale Prostataresektion (TUR-P)

Aufgrund der nachgewiesenen Langzeiteffektivität und der hohen Anzahl an durchgeführten Eingriffen gilt die TUR-P als Referenzverfahren in der interventionellen Therapie [4]. Hierbei wird das obstruierende Adenomgewebe mit einer stromführenden Schlinge unter endoskopischer Sicht herausgeschnitten. Neben dem Schnitt durch die elektrische Schlinge findet parallel eine Koagulation der Schnittfläche statt und größere Blutungen werden vermieden [4].

Der Eingriff führt zu einer sofortigen und langanhaltenden Beseitigung der Prostataobstruktion. Die mittlere Reduktion der Symptomscores liegt bei über 70 % [145]. Auch die IPSS Reduktion von durchschnittlich 13 Punkten steht für die Effektivität dieser Methode [146, 147].

Laut guter Studienlage werden alle objektiven Parameter wie Q_{max} , $PdetQ_{max}$, Uroflow-Parameter und Restharnmenge durch den Eingriff deutlich verbessert [148-151]. In weiteren

Studien ließen sich eine Verbesserung der Symptomatik und eine damit zusammenhängende Steigerung der Lebensqualität von 70 % feststellen [77].

Die perioperative Mortalität spielt heutzutage nahezu keine Rolle mehr, sie liegt bei etwa 0,1 % [152]. Gefürchteter ist eine Einschwemmung der elektrolytfreien Spüllösung, die zu einer hypoosmolaren Hyperhydratation führen kann, dem sogenannten TUR-Syndrom. Diese Komplikation tritt bei etwa 0,8-1,4 % der Fälle auf und ist abhängig vom Prostataavolumen und den Transfusionsraten [152, 153]. Weitere Probleme nach TUR-Ps sind retrograde Ejakulationen (in 50-90 %), Harninkontinenz, Harnröhrenstrikturen, Re-Interventionsraten von ca. 5 % und Re-Operationsraten von etwa 2 % pro Jahr [145, 154, 155].

Um diese Morbiditäten und Nebenwirkungen zu minimieren gibt es große Bestrebungen, bessere und schonendere Techniken zu finden.

Offene Adenomenukleation (oAE)

Dieses Verfahren ist das älteste Operationsverfahren zur Therapie des obstruktiven BPS. Es wird vorwiegend für großvolumige Prostaten oder bei Begleitpathologien angewandt [4]. Durch den Eingriff kann eine vollständige Entfernung des obstruktiven Prostataadenoms gewährleistet werden. Die hohe Invasivität und die prolongierte Krankenhausverweildauer werden heutzutage als nachteilig angesehen. Daher wird das Verfahren vor allem für großvolumige Prostaten empfohlen, um der volumenbedingten Zunahme der Morbidität der TUR-R entgegenzuwirken.

Die Operation führt zu einer relevanten Symptomreduktion und einer deutlichen Steigerung der Lebensqualität [156-158]. Die Dauerhaftigkeit der Symptomreduktion konnte für bis zu 5 Jahre sicher nachgewiesen werden, zeigt jedoch in verschiedenen Studien auch längere Intervalle [156].

Die hohe Invasivität der offenen Adenomenukleation spiegelt sich in den Raten der unerwünschten Nebenwirkungen und in der langen Verweildauer im Krankenhaus wider [4].

Postoperative Inkontinenzraten, erneute Eingriffe aufgrund von Harnröhrenstrikturen, retrograde Ejakulationen, Wundheilungsstörungen oder Blasenhalssklerosen sind nur einige der UAWs nach solchen Eingriffen [156, 159]. Die durchschnittliche Krankenhausverweildauer liegt bei etwa 11 Tagen [159].

Transurethrale Inzision der Prostata (TUIP)

Dieses Verfahren ist besonders für jüngere, sexuell aktive Männer geeignet, die ein Prostatavolumen < 30 ml aufweisen [4, 160]. Hierbei wird eine Inzision des Blasenhalses und der Prostata durchgeführt, welcher zur Reduktion der Obstruktion führen soll. Dabei soll eine reduzierte Morbidität, vor allem die Vermeidung der retrograden Ejakulation, erzielt werden [4].

Die Studienergebnisse der TUIP sind mit den Ergebnissen der TUR-P vergleichbar: Der Eingriff führt zu einer signifikanten Reduktion der Symptomatik sowie zu einer IPSS-Reduktion von 9,4-15 Punkten [161, 162].

Das Nebenwirkungsprofil fällt deutlich geringer aus im Vergleich zur TUR-P, jedoch steigt das Re-Operationsrisiko, da das Adenomgewebe nicht entfernt wird. Die antegrade Ejakulation kann mittels TUIP bei der Mehrzahl der Patienten erhalten werden [146, 154].

Laserverfahren

Laserverfahren wurden in den klinischen Alltag eingeführt, mit dem Ziel der Morbiditätssenkung bei vergleichbarer Effektivität gegenüber den anderen Therapieoptionen [4]. Die Verfahren sind vor allem für Patienten indiziert, für die das höhere Morbiditätsrisiko einer TURP nicht zu verantworten ist oder der Eingriff für den Patienten unzumutbar erscheint [163].

Die Bezeichnung „Laserverfahren“ ist ein Oberbegriff für verschiedene Lasersysteme, die sich sowohl in Art des Lasers, Energiefreisetzung, Wellenlänge etc. unterscheiden. Im klinischen Alltag zur Therapie des BPS spielen derzeit vier Lasersysteme eine Rolle: der Holmium:YAG Laser, der GreenLight Laser, der Thulium:YAG Laser und die Diodenlaser [4]. Mit den unterschiedlichen Lasern können dann verschiedene Verfahren bei Patienten angewendet werden, darunter die Interstitielle Laserkoagulation, Laserresektion/-enukleation und die Laservaporisation der Prostata [77, 163].

Die Effektivität und der Erfolg der Therapie lassen sich mit dem TURP-Eingriff vergleichen und zeigt dabei geringere Morbidität [77].

1.7. Glatte Muskulatur der Prostata

Die Volkskrankheit BPS führt über den erhöhten Tonus der glatten Prostatamuskulatur zu einem Auslasswiderstand bei der Blasenentleerung, welcher wiederum zu Miktionsstörungen führen kann [42, 71, 164]. Dieser erhöhte Tonus wird vorwiegend über α_1 -Adrenorezeptoren vermittelt, deren Aktivierung zur Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata führt [71]. Das Verständnis über die genaue Vermittlung und den Ablauf der Kontraktion ist daher grundlegend sowohl für die Therapie als auch für die Forschung und wird deshalb ausführlich im Folgenden behandelt.

Aufgrund der enormen Prävalenz der BPH und den damit verbundenen Problemen beim Wasserlassen, mit denen nahezu jeder Mann des mittleren und hohen Lebensalter umgehen muss, kommt dem Verständnis der Vorgänge innerhalb der Prostata eine hohe Bedeutung zu. Die experimentelle Forschung der Zellvorgänge ist deshalb sowohl für das Verständnis der Pathophysiologie als auch für neue Therapieansätze von großem Interesse.

1.7.1. Glatte Muskulatur der Prostata – Tonusregulation

Im Verlauf der gutartigen Vergrößerung der Prostata kommt dem Stroma meist der größte Anteil des Prostatavolumens zu. Das Stroma der humanen Prostata besteht neben glatten Muskelzellen aus Fibrozyten und Bindegewebe, wobei der Muskelanteil bis zu 40 % des zellulären Prostatavolumens ausmachen kann [2, 42, 165].

Im Unterschied zu quergestreifter Skelettmuskulatur unterliegt die glatte Muskulatur der Kontrolle des unwillkürlichen Nervensystems. Die Regulation über Tonus und Kontraktion der glatten Muskulatur im Körper wird vom vegetativen Nervensystem bewerkstelligt, das sich aus Parasympathikus und Sympathikus zusammensetzt. Die traditionelle Vorstellung ist, dass der Tonus und die Kontraktion der glatten Prostata-Muskulatur durch sympathische Efferenzen unter Ausschüttung adrenerger Neurotransmitter kontrolliert werden und die Signalweiterleitung in die glatten Muskelzellen, zum Auslösen von Kontraktionen, über die Aktivierung postsynaptischer α_1 -Adrenozeptoren erfolgt [71, 72]. Jedoch führten jüngste Nachforschungen zur Kontraktion der glatten Prostatamuskulatur zur Annahme, dass es weitere Mechanismen gibt, die zur Kontraktion der Muskelzellen innerhalb der Prostata führt. Man musste sich eingestehen, dass die glattmuskuläre Kontraktion der humanen Prostata erst im Ansatz verstanden wurde und weitere Grundlagenforschung zur Aufklärung der tatsächlichen Mechanismen durchgeführt werden müssen. Sicher ist, dass der größte Anteil der prostatistischen Kontraktion über α_1 -Adrenorezeptoren vermittelt wird (etwa 50 %), jedoch spielen auch nicht-adrenerge Signalwege eine wichtige Rolle und könnten für die Therapie des BPS von Bedeutung sein [42, 72, 90].

Die Relaxation der glatten Muskulatur der humanen Prostata wird durch die Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) bewerkstelligt. Hierbei aktiviert das ausgeschüttete NO die Guanylatzyklase, die wiederum die zytosolische Konzentration von cGMP durch Synthese erhöht. Dieser Vorgang führt über Phosphorylierungen von Proteinkinase G, Ionenkanälen und Phosphodiesterasen zur Entfernung von intrazellulärem Calcium und somit zur Relaxation [130].

Um die kontraktile Vorgänge der Prostata besser zu verstehen und mögliche Therapieansätze zu finden, können in experimentellen Studien (wie in der vorliegenden Arbeit) glattmuskuläre Kontraktion gemessen werden, die künstlich ausgelöst werden. Durch α_1 -Adrenozeptor-Agonisten wie Noradrenalin oder Phenylephrin lassen sich dabei Kontraktionen von isoliertem, humanem Prostata-Gewebe auslösen, die den physiologischen Vorgängen nahe kommen [164, 166-170]. Zusätzlich können andere, nicht-adrenerge Agonisten wie Endotheline und Thromboxan zum Einsatz kommen, um Kontraktionen auszulösen. Durch solche Versuche im Organbad kann die glattmuskuläre Kontraktion der humanen Prostata untersucht, und ein besseres Verständnis über die Zellvorgänge geschaffen werden. Experimentelle Studien können Grundlagen für neue Strategien der Hemmung der glattmuskulären Kontraktion in der humanen Prostata darstellen und sind deshalb von großer Bedeutung.

1.7.2. Physiologie der glatten Muskulatur – Molekulare Mechanismen

Humane glatte Muskulatur ist sehr heterogen und wird häufig von einer Bindegewebsmatrix umgeben. Glatte Muskulatur ist wie Skelettmuskulatur aus Aktin und Myosin aufgebaut, es fehlt allerdings die Myofibrillenstruktur und damit die Querstreifung [171]. Calmodulin dient als Calcium-bindendes Protein anstelle von Troponin im Skelettmuskel. Die Elektromechanische Kopplung findet in glatten Muskelzellen üblicherweise über Aktionspotentiale statt. Diese Potentiale führen zu einer Depolarisation der glatten Muskelzellen. Es folgt eine Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration von $<10^{-7}\text{mol/l}$ auf etwa 10^{-6} - 10^{-5}mol/l [171]. Wie die Depolarisation zustande kommen kann und welche Signalwege es gibt, wird in den folgenden Abschnitten beschrieben, jedoch ist die Endstrecke der Kontraktion immer dieselbe, unabhängig vom Auslöser: Das Calcium bindet an Calmodulin, welches gemeinsam die Myosin-leichte-Ketten-Kinase (MLKK, engl. MLCK) aktiviert. Das führt zu einer Phosphorylierung der leichten Kette und damit zur Aktivierung der ATPase-Aktivität des Myosins. Hierdurch werden die Aktin- und Myosinfilamente zum Übereinandergleiten angeregt und eine Kontraktion der Zelle ausgelöst [171].

Die Ca^{2+} -ATPase und der Na^+ - Ca^{2+} -Antiporter führen zu einer Erniedrigung des intrazellulären Calciumspiegels auf $<10^{-7}\text{mol/l}$. Dadurch zerfällt der Ca^{2+} -Calmodulin-Komplex und die Relaxation erfolgt über die Dephosphorylierung der leichten Ketten des

Myosins durch die Myosin-leichte-Ketten-Phosphatase (MLKP, engl. MLCP) [171]. Zusätzlich kann eine Erhöhung der zyklischen Nukleotide cAMP und cGMP durch Stimulation des β -Rezeptors oder NO (Stickstoffmonoxid) zu einer Relaxation der glatten Muskulatur führen [171].

Die Kommunikation der glatten Muskelzellen findet entweder über Gap junctions statt, was zu einer praktisch zeitgleichen Kontraktion der Zellen führt (Single-unit-Typ) oder die glatten Muskelzellen sind durch eine basalmembranähnliche Schicht voneinander isoliert und werden neurogen durch das vegetative Nervensystem innerviert (Multi-unit-Typ) [171]. Bei den Muskelzellen der humanen Prostata handelt es sich um Muskelzellen vom Multi-unit-Typ. Die Kontraktion wird nicht myogen, sondern neurogen durch den Sympathikus des vegetativen Nervensystems ausgeführt. Die Neurotransmitter erreichen die Zellen per Diffusion, durch die Synapsen en distance. So entstehen neurogene Präpotentiale, in den Muskelzellen der Arteriolen, denen Aktionspotentiale folgen [20].

1.8 Signalwege der Kontraktionen von glatter Prostatamuskulatur

Es gibt verschiedene Signalwege, welche die Kontraktion von glatter Muskulatur in der Prostata auslösen können. Diese führen alle über parallel ablaufende Ca^{2+} -Sensitisierung (Phosphorylierungen) und Ca^{2+} -Desensitisierung (Dephosphorylierungen) zu Veränderungen im Tonus der glatten Muskulatur. Angriffspunkt dieser Vorgänge sind die MLCK und die MLCP, welche die Kontraktion auslösen beziehungsweise verhindern oder rückgängig machen [71, 172, 173]. Im Folgenden werden die verschiedenen Signalkaskaden, die zu diesen Vorgängen führen, beschrieben.

1.8.1. α_1 -adrenerge Kontraktion

Die adrenerg-vermittelte Kontraktion der prostatistischen glatten Muskulatur ist die bekannteste und am besten untersuchte. Sie ist die Ansatzstelle der gängigsten medikamentösen Therapie (α -Blocker) und wird deshalb detailliert beschreiben.

1.8.1.1. α_1 -Adrenorezeptoren und rezeptorassoziierte G-Proteine

Es sind drei verschiedene Unterformen des α_1 -Adrenorezeptors bekannt, die durch unterschiedliche Gene codiert werden: α_{1A} , α_{1B} und α_{1D} [71, 90, 174]. Obwohl alle drei Rezeptor-Typen in der Prostata vorkommen, konnte in Studien nachgewiesen werden, dass der α_{1A} -Subtyp der am häufigsten exprimierte ist [62, 71, 174]. Studien ergaben, dass der α_{1A} -Subtyp etwa 70 % der α_1 -Adrenorezeptoren in der humanen Prostata ausmacht, dazu hat man das Verhältnis der mRNA-Verteilung analysiert [175-177]. Im hyperplastischen Prostatagewebe wird sogar eine 85 prozentige Verteilung zugunsten des α_{1A} -Subtyps angenommen [59, 71]. In immunhistochemischen Verfahren konnte dargestellt werden, dass sich der α_{1D} -Subtyp vor allem auf intraprostatische Blutgefäße und der α_{1B} -Subtyp auf das Epithel beschränkt, währenddessen der α_{1A} -Subtyp im gesamten Stroma der Prostata vorhanden ist [178]. Durch radioaktiv markierte, subspezifische Liganden sowie durch myographische Untersuchungen im Organbad mit subtypspezifischen Antagonisten konnte die dominierende Rolle des α_{1A} -Rezeptorsubtyps bestätigt werden [59, 90, 177].

Die α_1 -Rezeptoren der Prostata sind G-Protein gekoppelte Rezeptoren mit einer extrazellulären Domäne für die Bindung von erregenden Agonisten, einer Transmembrandomäne und einer intrazellulären Domäne, welche als Kopplungsstelle für die heterotrimeren G-Proteine dient [71]. Die heterotrimeren, rezeptorassoziierten G-Proteine bestehen aus einer α -, einer β - und einer γ -Untereinheit [60, 71, 72, 172].

1.8.1.2. Mechanismen der α_1 -adrenergen Kontraktion in der humanen Prostata

Die Bindung von erregenden Agonisten (z. B. Noradrenalin) an die α_1 -Rezeptoren der Prostata führt zu einer Konformationsänderung des Rezeptors und damit zur Dissoziation der $G\alpha$ -Untereinheit von der β/γ -Untereinheit [72, 172, 173, 179-181]. Die aktivierte $G\alpha$ -Untereinheit, bei welcher es sich um $G\alpha_{q/11}$ oder $G\alpha_{12/13}$ handelt, kann nach ihrer Dissoziation drei intrazelluläre Signalketten aktivieren, welche in einer Kontraktion der glatten Muskelzelle gipfelt: Die Kontraktion vermittelt durch Calcium, durch die Proteinkinase C und die Rho-Kinase [71]. Im Folgenden werden diese beiden Signalwege ausführlich erläutert.

Phospholipase C vermittelte Kontraktion

Nach der Aktivierung durch die Untereinheit $G\alpha_{q/11}$ hydrolysiert die Phospholipase C (PLC) das in der Zellmembran befindliche Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphat (PIP_2). Das PIP_2 wird dadurch in zwei Second-Messenger aufgetrennt: Das Inositol-1,4,5-Trisphosphat (IP_3) und das Diacylglycerol (DAG) [71, 72, 172, 173, 180, 181]. Beide Moleküle können über unterschiedliche Wege zu einer Kontraktion führen:

Der IP_3 -Signalweg setzt sich fort, indem das Molekül Ca^{2+} -Kanäle im intrazellulär gelegenen Sarkoplasmatischen Retikulum öffnet und dadurch eine Steigerung der zytosolischen Calciumkonzentration auslöst und folglich zu einer Depolarisation des Membranpotential führt. Im nächsten Schritt öffnen sich spannungsabhängige Ca^{2+} -Kanäle in der Zellmembran. Verursacht durch den Konzentrationsgradienten von Calcium führt die Öffnung der Kanäle zu einem enormen Calciumeinstrom ins Zellinnere. Die intrazelluläre Calciumzunahme führt wie oben beschrieben über den Ca^{2+} -Calmodulin-Komplex und die MLC-Phosphorylierung zu einer Kontraktion [71].

Im Vergleich dazu aktiviert das DAG die Proteinkinase C (PKC) [71, 72, 172, 173, 180, 181]. Diese hemmt die MLC-Phosphatase, entweder über eine direkte Phosphorylierung oder über eine Zwischenstation, das CPI-17 (PKC-potentiated Inhibitor Protein) [71]. Auch dieser Signalweg führt schlussendlich zu einer Kontraktion, indem das Gleichgewicht zwischen MLC-Phosphatase und MLC-Kinase durch die Inhibierung der Phosphatase zu Gunsten der Kinase ausgelenkt wird und es dadurch zu einer Zunahme der phosphorylierten Myosinleichtketten kommt, mit bekannten Folgen.

RhoA/Rho-Kinase vermittelte Kontraktion

RhoA gehört neben RhoB, RhoC, Ras, Raf und Rab zu der Proteinfamilie der kleinen monomeren GTPasen. Neben seiner Aufgabe als Effektor bei der glattmuskulären Kontraktion ist RhoA an verschiedenen zellulären Vorgängen wie der Zellproliferation, der

Zellmigration, der Zellintegration und der Apoptose beteiligt. Reguliert wird das kleine G-Protein durch die Faktoren RhoGEF (guanine nucleotide exchange factor), RhoGAP (GTPase activating protein) und RhoGDI (GDP dissociation inhibitor) [20, 173, 179].

Im inaktiven Zustand ist RhoA an RhoGDI gebunden und wird im Zytosol fixiert. Bei Aktivierung durch die $G\alpha$ -Untereinheit des heterotrimeren G-Proteins, identisch mit der Aktivierung der PLC, findet ein Austausch von GDP zu GTP durch ein RhoGEF statt. Dieser Austausch führt einerseits zur Aktivierung von RhoA und andererseits zur Abspaltung des RhoGDIs, was zu einer Translokation von RhoA an die Zellmembran führt [71, 172, 173, 179].

Das aktivierte RhoA, welches sich nun an der Zellmembran befindet, interagiert mit der Rho-Kinase. Letztere phosphoryliert die MLC-Phosphatase an verschiedenen Threoninen, welche in der regulatorischen Untereinheit der Phosphatase lokalisiert sind. Parallel kommt es zu weiteren Phosphorylierungen von Regulatorproteinen der MLC-Phosphatase (z. B. des PKC-potentiated inhibitor protein). Diese Vorgänge führen allesamt zu einer herabgesetzten Aktivität der MLC-Phosphatase, was, identisch zum DAG-Signalweg, zu einer Anhäufung von phosphorylierten Myosinleichtketten und dadurch zu einer Kontraktion führt [71, 172, 173, 179-181].

Zusammengefasst ist zu sagen, dass die Rho-Kinase die zentrale Rolle für die Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata darstellt, dies wurde in Organbadversuchen bestätigt [172, 182, 183]. Weiter werden die beiden Signalwege „RhoA“ und „PKC“ als Calciumsensitierende Signalwege bezeichnet, da sie ohne die typische Erhöhung der Calciumkonzentration im Zellplasma der glatten Muskelzelle eine Kontraktion auslösen können.

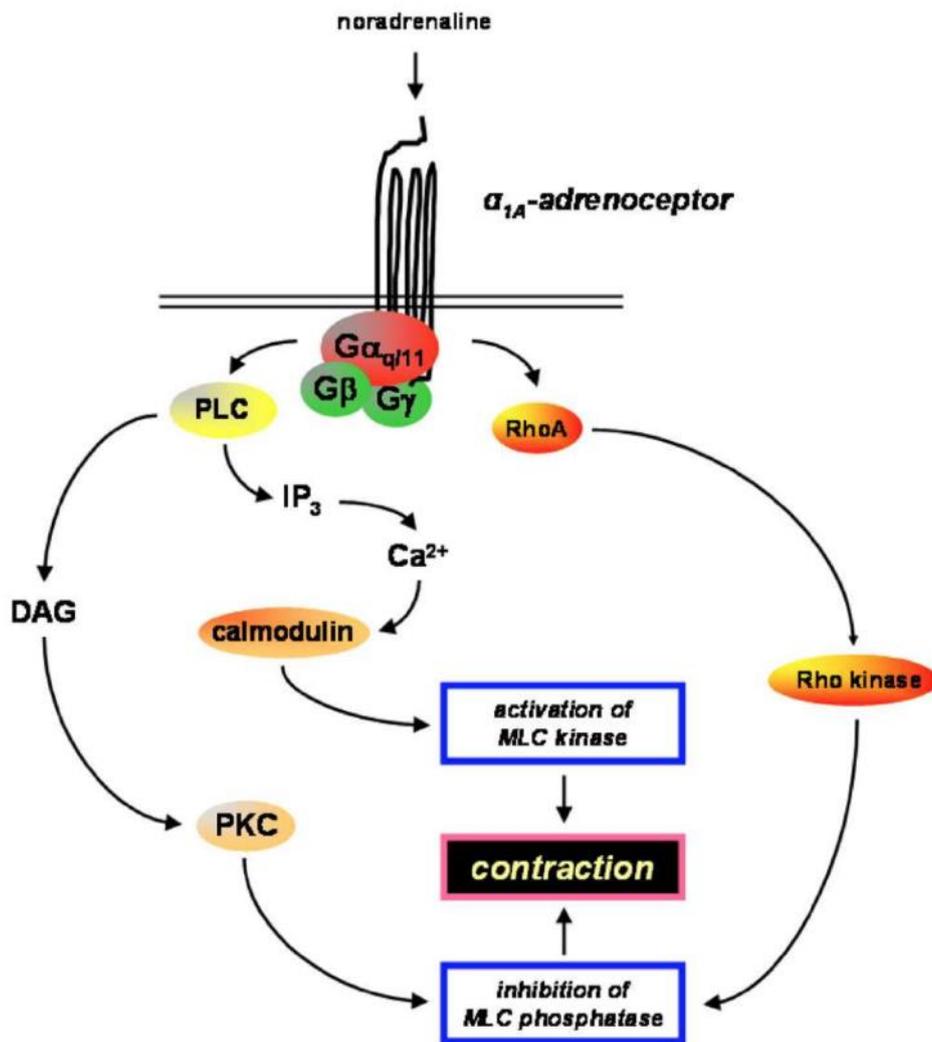


Abb. 5: Modell der α_1 -Adrenozeptor-vermittelten Kontraktion in der glatten Muskulatur der Prostata. Die Stimulation der α_1 -Adrenozeptoren durch Noradrenalin führt über drei Signalwege (PLC/IP₃/Ca²⁺) und die Aktivierung der MLC-Kinase bzw. Inhibition der MLC-Phosphatase zur Kontraktion [71].

1.8.2. Nicht-adrenerge Kontraktion in der Prostata

Neuere Studien lassen darauf schließen, dass Kontraktionen nicht ausschließlich über den α_1 -Rezeptor und seinen primären Liganden Noradrenalin vermittelt werden können. Die zusätzlichen Mediatoren binden zwar an andere Rezeptoren der Zellmembran, können aber die identischen Signalkaskaden wie Noradrenalin am α_1 -Rezeptor auslösen und somit Kontraktionen induzieren. Die genaue Relevanz und Bedeutung dieser nicht-adrenergen

Mediatoren ist noch nicht abschließend geklärt, jedoch ist davon auszugehen, dass die verschiedenen Mediatoren im Körper nicht separat auftreten, sondern alle gemeinsam die Arbeitsweise der Prostata ausmachen. Das bedeutet also, dass die alleinige Blockade von α_1 -Rezeptoren in der Therapie der LUTS bzw. des BPS nicht ausreichend ist, da weitere Mediatoren die Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata weiterhin aufrecht erhalten können. Dieser Umstand könnte ein Erklärung dafür sein, wieso der Effekt der α_1 -Blocker als Therapie der LUTS beschränkt ist.

Zu den eben erwähnten, nicht-adrenergen Mediatoren der Prostatakontraktion gehören unter anderem die Endotheline 1-3 und das Thromboxan, auf die im Folgenden genauer eingegangen wird.

1.8.2.1. Endothelin-vermittelte Kontraktion in der Prostata

Es gibt drei strukturell verwandte Endotheline, die sich allesamt aus einer Peptidkette von 21 Aminosäuren zusammensetzen. Die Makromoleküle weisen jeweils zwei Disulfidbrücken auf, welche für Stabilität innerhalb des Moleküls sorgen. Das Endothelin-1 (ET-1) wird auch als „klassisches Endothelin“ bezeichnet und ist der potenteste bekannte Vasokonstriktor des menschlichen Körpers. Endothelin wird überwiegend in Endothelzellen von Blutgefäßen gebildet. Die Vermittlung der Endothelin-Wirkung findet über die beiden Endothelin-Rezeptoren ET(A) und ET(B) statt, bei denen es sich, vergleichbar mit dem α_1 -Adrenorezeptor, um G-Protein-gekoppelte Rezeptoren mit sieben Transmembrandomänen handelt. Die Endotheline unterscheiden sich untereinander am N-terminalen Ende der Peptidkette, was zu verschiedenen Affinitäten zu den Endothelin-Rezeptoren führt [184-188].

Obwohl noch Uneinigkeit über die intrazellulären Signalwege der aktivierten Endothelinrezeptoren besteht, ist man sich sicher, dass die verschiedenen Endothelinrezeptoren in der humanen Prostata exprimiert werden, durch die Endothelinisopeptide ET-1, ET-2 und ET-3 aktiviert werden können und somit zu Kontraktionen führen können [189-194].

Phospholipase C vermittelte Kontraktion

Parallel zur adrenergen, PLC-vermittelten Kontraktion kann Endothelin über die Aktivierung des G-Protein-gekoppelten Endothelinrezeptors zu einer Aktivierung der PLC und der dadurch folgenden Signalkette, die durch die Phosphorylierung der leichten Myosinketten durch die MLC-Kinase und aktiviertem Calmodulin in einer Kontraktion münden kann, führen [71, 193, 195].

RhoA/Rho-Kinase-vermittelte Kontraktion

Endotheline können auch über den Signalweg der Rho-Kinase zu einer Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata führen. Hierbei wird, identisch zum adrenergen RhoA/Rho-Kinase Signalweg, der Endothelinrezeptor stimuliert, das heterotrimere G-Protein dissoziiert und aktiviert das kleine G-Protein RhoA. Dieses aktiviert die Rho-Kinase, welche wiederum eine Hemmung der MLC-Phosphatase bedingt. Somit überwiegt die Aktivität der MLC-Kinase und eine Kontraktion wird begünstigt [71, 172, 183, 189].

1.8.2.2. Thromboxan-vermittelte Kontraktion in der Prostata

Thromboxan ist ein mit den Prostaglandinen verwandtes Molekül bzw. ein Derivat der Arachidonsäure. Wie der Namen schon andeutet, kommt es hauptsächlich in Thrombozyten vor und wirkt vorwiegend als lokales Gewebshormon. Das biochemisch relevante Molekül Thromboxan A₂ kann sowohl im Kardiovaskulären System als auch in der Lunge und der Blase glatte Muskulatur zum kontrahieren bringen [71, 196-198].

Neue Studien im Labor des Promovenden belegen, dass das stabile Thromboxan-Analogon U46619 konzentrationsabhängige Kontraktionen von nicht-malignen Prostatagewebestücken auslösen kann [168]. Weiter fand man heraus, dass die intrazelluläre Signalkette, parallel zu adrenergen Signalwegen, über die Aktivierung des PLC- und des Rho-Kinase-Signalweg funktioniert. Dabei kann die Kontraktion sowohl über die Erhöhung des interzellulären

Calciumspiegels ausgelöst werden als auch über die calciumunabhängige Kontraktion durch die Proteinkinase C und die Rho-Kinase wie oben beschrieben [72, 168, 172].

1.8.3 Neue Mechanismen der Prostatakontraktion

Im Laufe der letzten Jahre wurden im Labor des Promovenden intrazelluläre Effektor-Moleküle identifiziert, die über die drei oben beschriebenen, etablierten bzw. „klassischen“ Signalwegen (Ca²⁺, DAG/PKC, RhoA/Rho-Kinase) hinaus ebenfalls an der glattmuskulären Kontraktion in der humanen Prostata beteiligt sind. Dabei handelt es sich um die c-Jun N-terminale Kinase (JNK), die *focal adhesion kinase* (FAK), sowie die monomeren Rac-GTPasen [169, 199, 200]. In funktionalen Experimenten, die in Organbädern durchgeführt wurden, hemmten Inhibitoren für diese Kinasen bzw. für Rac die Kontraktionen von humanen Prostatageweben [169, 199, 200]. Daten aus quantitativer PCR, Western-Blot-Analysen und Immunfluoreszenz-Färbungen legten zudem eine Expression in glatten Muskelzellen der humanen, hyperplastischen Prostata nahe [169, 199, 200].

Die Hemmung der Kontraktion humaner Prostatagewebe durch Rac-Inhibitoren wurde für die Noradrenalin- und Phenylephrin-induzierte, sowie für die neurogene Kontraktion (induziert durch elektrische Feldstimulation, EFS) beobachtet [200]. Die Spezifität für eine Beteiligung von Rac GTPasen wurde durch Einsatz von zwei verschiedenen Inhibitoren (NSC23766, EHT1864) bestätigt: beide Inhibitoren lieferten dieselben Ergebnisse (=Hemmung der Kontraktion), obwohl sie strukturell nicht näher miteinander verwandt sind [200]. Insgesamt legt dies nahe, dass es sich bei den Rac-GTPasen um wichtige intrazelluläre Signalgeber glatter Muskelzellen handelt, welche in der humanen Prostata die Kontraktion fördern und begünstigen [200]. Ob Rac-GTPasen dabei selbst die Kontraktion vermitteln, also wie z. B. RhoA durch α_1 -Adrenozeptoren aktiviert werden, oder ob es sich um Rezeptor-unabhängige Regulatoren der Kontraktilität handelt, muss derzeit noch offen bleiben. Monomere GTPasen wie Rac und RhoA werden generell durch sog. GTP-Austauschfaktoren, worauf im folgenden Abschnitt eingegangen wird.

1.9. Guanin-Exchange-Factors (GEFs)

GTP-Austauschfaktoren (GEFs) sind monomere große oder kleine Proteine, welche nach ihrer Aktivierung den Austausch von GDP zu GTP an sog. GTPasen bewerkstelligen [201]. Durch die Bindung von GTP werden diese GTPasen ihrerseits aktiviert [71, 172, 179, 200, 202]. Die Gruppe der durch GEFs aktivierten GTPasen umfasst sowohl die Rezeptor-assoziierten, heterotrimeren G-Proteine, als auch die sog. kleinen monomeren G-Proteine wie RhoA oder Rac [201].

Die Aktivierung der heterotrimeren G-Proteine durch stimulierte Rezeptoren, z. B. den oben genannten Adrenozeptoren mit seinem Liganden Noradrenalin, ist recht gut bekannt und wurde vielfach untersucht [173, 180, 181]. Weniger gut bekannt ist dagegen die Aktivierung der monomeren GTPasen, wie z. B. die oben genannten G-Proteine RhoA und Rac. Man weiß zwar, dass beide einen großen Einfluss auf die Kontraktion der glatten Prostatamuskulatur besitzen [71, 172, 200, 203]. Welche GEFs an ihrer Aktivierung in der Prostata beteiligt sind, ist jedoch noch völlig unbekannt. Auf Grund der Bedeutung von RhoA und Rac für die Kontraktion der glatten Muskulatur in der Prostata scheint auch eine entsprechende Relevanz für GEFs naheliegend.

1.9.2. GEF-Inhibitor SecinH3

In der vorliegenden Arbeit wurde der GEF-Inhibitor SecinH3 verwendet. Dieser ist ein Sec7-spezifischer GEF-Inhibitor, mit großer Selektivität für kleine GEFs der Cytohesin-Familie [204, 205]. Gut untersucht ist die Sec7-Domäne in Bezug auf ADP Ribosylierungs-Faktoren (Arf). Diese Faktoren regulieren unter anderem den Transport in Vesikeln an vielen Stellen innerhalb der Zelle. Die Sec7-Domäne wirkt hier als Katalysator für den Austausch von GDP mit GTP und reguliert damit die GTPase-Aktivität von ADP Ribosylierungsfaktoren [206, 207].

Im Magazin Nature veröffentlichten Hafner et al. 2006 einen Artikel darüber, welche Bedeutung G-Proteine für Regulierungen in allen lebenden Systemen besitzen [205]. Die

Schaltstelle „GEF“, die zur Aktivierung intrazellulärer Signalkaskaden beiträgt, ist deshalb besonders attraktiv als Möglichkeit G-Protein-ausgelöste krankheitsrelevante Signalnetzwerke besser zu verstehen und therapeutische Angriffspunkte für medikamentöse Intervention zu finden [204, 205]. GEF-Inhibitoren sind daher als Werkzeuge für das Verstehen der Funktion der Proteine und die Entwicklung möglicher therapeutischer Interventionen interessant [204, 205].

Secin H3 stellt einen weiteren GEF-Inhibitor, neben dem bisher einzig benutzten GEF-Inhibitor Brefeldin A (BFA), dar [204, 205]. Der Inhibitor ist ein kleines Molekül, das als Antagonist von Cytohesinen wirkt [204, 205]. Cytohesine sind eine Klasse kleiner GEFs für ADP-Ribosylierungs-Faktoren (ARFs), die unter anderem die Zytoskelett-Organisation, die Integrin Aktivierung und Integrin- Signalwege steuern. Die Applizierung von Secin H3 in menschliche Leberzellen hat gezeigt, dass Insulin-Rezeptor-Komplex-assoziierte Cytohesine für das Insulin-Signal unabdingbar sind [205]. Da die Cytohesin-Hemmung in Studien zu hepatischer Insulinresistenz geführt haben, und diese Resistenz unter den frühesten pathologischen Veränderungen des Typ 2 Diabetes verbreitet ist, zeigen die Ergebnisse mit SecinH3 das Potenzial der chemischen Biologie molekulare Pathogenese von Krankheiten aufzudecken und zu verstehen [205].

Es ist also, übertragen auf die vorliegende Arbeit, gut vorstellbar durch den GEF-Inhibitor SecinH3 einerseits genauere Hinweise über die Signalwege der kleinen G-Proteine auf die Kontraktion der glatten Muskulatur der Prostata zu erhalten und andererseits dadurch neue Angriffspunkte der Therapie von BPS und LUTS zu erkennen.

1.9.1. GEF-Inhibitor ITX3

Als zweiter Inhibitor wurde in der vorliegenden Arbeit ITX3 verwendet, ein selektiver Inhibitor der TrioN RhoGEF-Aktivität. TrioN-assoziiierter GTP-Austausch findet an RhoG und Rac1 statt [208, 209]. RhoGEFs sind Regulatoren der Zelladhäsion und Migrationsbahnen. Sie stellen damit ein attraktives Ziel für nichtinvasive medikamentöse Interventionen dar, da sie als Schaltstellen für viele intrazelluläre Aktivitäten dienen [209].

ITX3 ist ein nicht-toxischer Inhibitor der N-terminalen GEF-Domäne des Trio-Proteins [209].

Man fand weiter heraus, dass ITX3 unter anderem die TrioN-ausgelöste Rac1-Aktivierung blockieren kann [209]. ITX3 stellt damit einen selektiven Inhibitor des Trio/RhoG/Rac1 Signalwegs dar und verdeutlicht, dass RhoGEFs Ziele medikamentöser Therapien darstellen können [209].

Laut Shirai et al. modulieren Rho-Proteine neben Zelladhäsion, Polarität, Migration, Proliferation und Apoptose auch die Kontraktion von normalen Körperzellen [210]. Dies führt zur unserer Annahme, dass ITX3 möglicherweise auch als Inhibitor der Kontraktion in glatten Muskelzellen der Prostata führen kann.

2 Zielsetzung

Die Aktivierung der monomeren G-Proteine RhoA und Rac spielen eine zentrale Rolle bei der glattmuskulären Kontraktion der humanen Prostata, welche wiederum zentrale Rollen bei der Entstehung und Therapie von Symptomen des unteren Harntraktes einnimmt [71, 200]. Die Aktivierung solcher GPTasen wird durch GTP-Austauschfaktoren, sog. GEFs bewerkstelligt [179]. Diese GEFs initiieren den Austausch von GDP und GTP, und lösen damit die Aktivierung der kleinen G-Proteine aus [179]. In der glatten Muskulatur der Prostata sind noch lange nicht alle Prinzipien der Kontraktion verstanden – insbesondere ist auch die Aktivierung der GTPasen RhoA und Rac unklar. Eine Beteiligung von GEFs an dieser Aktivierung und damit an der Regulation des glattmuskulären Tonus der Prostata ebenso wie an der Pathogenese von LUTS erscheint denkbar, wurde jedoch nie untersucht. Vor kurzem wurden erstmalig spezifische Inhibitoren für verschiedene GEFs entwickelt, was solche Untersuchungen ermöglicht. Dies könnte einerseits einen interessanten Ansatz für ein besseres Verständnis über die intrazellulären Mechanismen der Prostatakonztraktion darstellen, und andererseits mögliche neue Ansatzpunkte für die medikamentöse Therapie der LUTS beim BPS eröffnen.

Grundlage der vorliegenden Arbeit waren die folgenden Fragestellungen:

1. Hemmen die GEF-Inhibitoren SecinH3 und ITX3 im humanen Prostatagewebe Kontraktionen, die durch die α_1 -Adrenozeptoren-Agonisten ausgelöst werden?
2. Hemmt der GEF-Inhibitor SecinH3 im humanen Prostatagewebe nicht-adrenerge Kontraktionen, die durch Endotheline oder Thromboxan ausgelöst werden?
3. Hemmt der GEF-Inhibitor SecinH3 im humanen Prostatagewebe neurogene Kontraktionen, die durch elektrische Feldstimulation ausgelöst werden?
4. Zeigt SecinH3 bei Kombination mit einem gängigen α_1 -Blocker additive Effekte auf die neurogene Kontraktion von humanem Prostatagewebe?

3 Material und Methoden

3.1. Humanes Prostatagewebe

Die Experimente im Organbad wurden mit Prostata-Geweben durchgeführt, die im Rahmen von radikalen Prostatektomien gewonnen wurden. Für die Versuche wurden ausschließlich Prostaten von Patienten benutzt, die in der Urologischen Klinik des Klinikum Großhadern, Universitätsklinikum der LMU München, operiert wurden. Da diese radikalen Prostatektomien an Patienten mit Prostatakrebs durchgeführt werden, wurde das hier verwendete Gewebe ausschließlich aus der periurethralen Zone der Prostata entnommen. Tatsächlich befinden sich 70-90 % der Prostatakarzinome in der peripheren Zone, während die periurethrale Zone bei radikal prostatektomierten Patienten normalerweise tumorfrei ist [6, 15]. Bei der makroskopischen Begutachtung während der Entnahme der Proben durch Pathologen (s. u.) konnte in keinem Fall ein Tumor-Befall der periurethralen Zone festgestellt werden.

Die vorgestellten Untersuchungen an humanem Prostatagewebe wurden von der Ethik-Kommission der LMU München genehmigt. Es wurden keinerlei Patientendaten oder Patienten-bezogene Daten archiviert oder gespeichert, folglich sind alle Versuche vollständig anonymisiert.

An den Tagen mit vorgesehener radikaler Prostatektomie wurden am jeweiligen Morgen Flaschen mit einer organprotektiven Lösung (Custodiol) im Operationssaal abgegeben. Unmittelbar nach Entnahme des Organs wurde das gesamte Präparat von den Operateuren in Custodiol-gefüllte Gläser gegeben, und so dem Promovenden übergeben. Dieser brachte das Organ anschließend sofort in die Pathologie des Klinikum Großhadern. Dort wurden der Eingang des Organs, sowie die Entnahme von Gewebe für Forschungszwecke dokumentiert. Nach der Tuschung und makroskopischer Begutachtung des Organs folgte die Gewebeentnahme aus der periurethralen Prostatazone. Es wurde darauf geachtet, ausschließlich tumorfreies Gewebe zu gewinnen. Nach der Frischgewebs-Entnahme für die beschriebenen Versuche wurde das übrige Präparat zur Fixierung und späteren diagnostischen

Aufarbeitung in Formaldehyd gelegt. Das Gewebe, welches für die vorgestellte Studie entnommen wurde, transportierte der Promovend in Custodiollösung in das benachbarte Urologische Forschungslabor, um unverzüglich mit den Versuchen zu beginnen. So lagen zwischen Entnahme des Organs im Operationssaal und Versuchsbeginn in der Regel 0,5-1 h. Tabelle 4 gibt den Ablauf eines Versuchstages mit Prostaten von drei Patienten wieder. Abweichungen waren möglich und häufig. Vor allem die Anzahl der Operationen, variierend von einer bis vier radikalen Prostatektomien an Operationstagen, veränderten den Tagesablauf.

8.00 Uhr	Abgabe der Gläschen mit Custodiol im Urologischen OP
8.00-8.30 Uhr	Vorbereitung der Organbäder
8.30-9.00 Uhr	Auswertung der Versuche des Vortags
9.00 Uhr	Abholung des ersten Organs und Gewebsentnahme in der Pathologie
9.15-11.45 Uhr	erster Versuch im Organbad
11.00 Uhr	Abholung des zweiten Organs und Gewebsentnahme in der Pathologie
12.00-14.30 Uhr	zweiter Versuch im Organbad
13.45 Uhr	Abholung des dritten Organs und Gewebsentnahme in der Pathologie
15.00-17.30 Uhr	dritter Versuch im Organbad
17.30-18.00 Uhr	Auswertung der Versuche des Tages

Tab. 4: Exemplarischer Tagesablauf im Labor bei einem Versuchstag mit Prostaten von drei Patienten.

3.2. Versuche im Organbad und myographische Messungen

Die Messungen der Kontraktilität des humanen Prostata-Gewebes erfolgten in sogenannten Organbädern. Die eingesetzten Geräte umfassten vier bzw. fünf isometrische Kraftmesser, in welchen die myographischen Messungen des Gewebes stattfinden. Untersucht wurde damit die Auswirkung verschiedener Inhibitoren auf die Kontraktion des Prostatagewebes, wobei pro Versuch 4-5 Proben aus derselben Prostata gemessen wurden.

Organbäder werden generell eingesetzt, um Kontraktionen oder Relaxationen glattmuskulärer Präparate aus verschiedensten Organen (kardiovaskuläres System, Atemwege, gastrointestinaler Trakt, unterer Harntrakt) zu untersuchen. Dazu wird in den sog. „Organbadkammern“ jeweils ein Gewebestück zwischen zwei Halterungen montiert. Bei diesen Halterungen kann es sich (wie hier) um zwei gegenüberliegende Spieße handeln, auf die das Gewebe aufgespießt werden kann. Dabei ist eine der Halterungen immobilisiert und an einen Kraftsensor angeschlossen, welcher Zugkräfte erfassen kann, die auf die Halterungen ausgeübt werden. Die andere der beiden Halterungen ist beweglich, so dass über einen Schraubmechanismus der Abstand zwischen beiden Halterungen geändert werden kann. Hierdurch ist es möglich, die montierten Gewebestücke zu spannen und so eine definierte, passive Spannung zu erzeugen, was zu Beginn jedes Versuches geschieht. Während des gesamten Experiments sind die Organbadkammern mit Krebs-Henseleit-Lösung gefüllt, welche durch eine Heizung im Organbad auf 37 °C gehalten und ständig mit Carbogen begast werden.

Durch Zugabe von kontraktilen Agonisten in die Organbadkammern können dann isometrische Kontraktionen der Gewebestücke ausgelöst werden – also Kontraktionen ohne Längenänderungen, da die Gewebe durch die Halterungen immobilisiert sind. Durch die isometrische Kontraktion steigt dann die Zugkraft, welche die zuvor einheitlich vorgespannten Gewebestücke auf die Halterungen ausüben. Die von den Kraftsensoren aufgenommenen Signale werden dabei durch einen Analog-Digital Wandler in elektrische Signale umgewandelt, und diese durch eine spezielle Software (Labchart) grafisch visualisiert. Benutzt wurden hier Organbäder der DMT (Danish Myo Technology, Dänemark) und der Firma FMI (Föhr Medical Instruments, Darmstadt).

In der vorgestellten Arbeit wurden Kontraktionen mit Noradrenalin, Phenylephrin (α_1 -spezifischer Adrenozeptor-Agonist), U46619 (stabiles Thromboxan-Analogon), Endothelin-1, Endothelin-2, Endothelin-3, und EFS (Elektrische Feld Stimulation) ausgelöst. Untersucht wurde dabei, ob verschiedene GTP-Austausch-Faktor-Hemmstoffe (Secin H3, ITX3) diese Kontraktionen signifikant hemmen bzw. reduzieren können.

3.2.1 KCl-induzierte Kontraktion

Als Referenz für die Messungen der Agonisten- und EFS-induzierten Kontraktionen wurde für jedes Prostatastück die KCl-induzierte Kontraktion bestimmt, was dem eigentlichen Versuch mit den Inhibitoren vorgeschaltet war. Dadurch wird es möglich, die Agonisten- und EFS-induzierten Kontraktionen nicht absolut (also als Kraft oder Gewicht), sondern relativ (als % der KCl-induzierten Kontraktion) auszudrücken. Dies ist wichtig, um Schwankungen der Proben-/Gewebegröße, sowie mögliche Heterogenitäten der Gewebe bzw. Patienten zu korrigieren bzw. mit einzubeziehen. Die Kontraktionen wurden zunächst in Milli-Newton (mN) erfasst. Bei der Auswertung wurden diese Werte der Agonisten- und EFS-induzierten Kontraktionen als Prozent des zugehörigen Wertes der KCl-induzierten Kontraktion ausgedrückt. Erst dadurch wird es möglich, Vergleiche zwischen Kontroll- und Inhibitor-Gruppen durchzuführen.

Der Mechanismus der KCl-induzierten Kontraktion ist folgender: Man appliziert eine hochmolare KCl-Lösung (in unserem Fall 2 molare Lösungen). Der normale intrazelluläre Raum ist kaliumreich und natriumarm, der extrazelluläre Raum dafür kaliumarm und natriumreich. Der Extrazellulärraum ist in diesem Fall die Krebs-Henseleit-Lösung in den Organbadkammern. Das Membranpotenzial wird durch verschiedene aktive Ionenpumpen aufrecht erhalten, vor allem die Natrium-Kalium-ATPase ist für diese Aufrechterhaltung entscheidend. Durch die Applikation der KCl-Lösung wird nun eine Veränderung der Kaliumkonzentration hergestellt, so dass diese nun etwa 80 mM in den Organbadkammern (=extrazellulär) beträgt. Nun ist die extrazelluläre Konzentration an Kalium höher als intrazellulär. Diese Umkehr des Konzentrationsgradienten führt zu einer schnellen Depolarisation des Membranpotentials. Durch diesen Vorgang werden spannungsgesteuerte Calcium-Kanäle an der Zellmembran geöffnet, und entsprechend dem Konzentrationsgradienten für Calcium, strömt Calcium ins Zellinnere und löst unmittelbar die Kontraktion aus, wie einleitend beschrieben.

Der Vorteil des prozentualen Bezuges der Rezeptor-induzierten Kontraktionen auf die Rezeptor-unabhängige, KCl-induzierte Kontraktion liegt in der besseren Vergleichbarkeit. Zum einen können unterschiedliche Größen der Gewebestücke damit ausgeglichen werden. Im Falle der Prostata ist eine Anfertigung von möglichst gleich großen Proben kaum möglich: die

Gewebe weisen Knoten auf, und dazwischen liegende (perinoduläre) Bereiche. Anders als bei anderen Geweben mit großer Homogenität (z. B. Wände von Blutgefäßen) lassen sich hieraus nicht zuverlässig Stücke von identischer Größe schneiden. Hinzu kommen Heterogenitäten, die zwischen den Prostaten verschiedener Patienten, aber auch zwischen benachbarten Bereichen innerhalb der periurethralen Zone bestehen. So zeigen verschiedene Proben unterschiedliche Anteile bzw. Verhältnisse von Drüsen und Stroma. Dadurch können verschiedene Stücke aus derselben periurethralen Zone im absoluten Extremfall komplett aus Stroma bestehen oder durch große Drüsen-Anteile geprägt sein. Erfahrungen aus anderen Studien im Labor des Promovenden zeigten, dass dies tatsächlich vorkommt [199]. Dieser Umstand kann die absolute Kontraktion im Organbad zwar entscheidend beeinflussen; bei Bezug auf die Gesamtmasse der glatten Muskulatur im Gewebestück (ermittelt durch KCl) ist ein Vergleich der Kontraktionen jedoch ohne weiteres möglich. Weitere Heterogenitäten betreffen den Grad der BPH, welcher sich beispielsweise durch den PSA-Gehalt semiquantitativ visualisieren lässt und zwischen den verschiedenen Patienten stark schwankt [164, 199, 200]. Damit einher gehen starke Schwankungen des glattmuskulären Markers Calponin, was tatsächlich einen variierenden Anteil glatter Muskulatur in den Geweben verschiedener Patienten widerspiegelt [164, 199, 200]. Auch solche Schwankungen werden durch den Bezug der Rezeptor-vermittelten Kontraktionen auf die KCl-induzierte Kontraktion ausgeglichen.

3.2.2. Ablauf der Messungen im Organbad

Die benutzen Organbäder der Firma FMI und DMT verfügen über fünf beziehungsweise vier Organbad-Kammern, mit einem Fassungsvermögen von jeweils 10 ml. Das Frischgewebe wurde auf eine Größe von circa 4x4x6 mm zugeschnitten. Die Organbäder verfügen über eine Vorrichtung, bestehend aus zwei kleinen Haken, in welche man die Prostata-Gewebe Stücke einspannen und fixieren kann. Durch einen Schraubmechanismus kann der Abstand der beiden Haken variiert werden und eine definierte passive Vorspannung, in unserem Fall 5 Millinewton, eingestellt werden. Diese immer identisch bleibende Vorspannung wurde eingestellt, um sowohl optimale Kontraktionen auszulösen als auch einheitliche, vergleichbare Ergebnisse zu erhalten. Einer der beiden Haken ist an einen Kraftübertragungsarm angeschlossen, welcher die isometrischen Kraftentwicklungen des Gewebes aufzeichnet und an das LabChart-Programm weiterleitet.

Das Frischgewebe wurde während des Versuchs in einer Flüssigkeit, der Krebs-Henseleit-Lösung, gelagert und kontinuierlich mit Carbogen (95% Sauerstoff, 5% Kohlenstoffdioxid) begast. Durch die Begasung mit Carbogen wurde zum einen das Gewebe mit Sauerstoff versorgt, und zum anderen der pH-Wert der Lösung stabil gehalten und so ein Ausfallen von Kalzium verhindert. Des Weiteren wurde die Temperatur der Organbadkammern bei 37 °C konstant gehalten.

Da der Tonus der glatten Muskulatur anfänglich spontan abfällt, muss eine etwa 45minütige Äquilibrationsphase eingehalten werden, in welcher der Abstand der Haken etwa dreimal nachjustiert wird, um die gewünschte Spannung wiederherzustellen und zu stabilisieren. Erst dann ist die passive Vorspannung bei 5 mN relativ konstant, und der Versuch kann fortgeführt werden.

Der nächste Schritt des Versuches bestand in der Zugabe der hochmolaren KCl-Lösung, die eine maximale Kontraktion des Gewebes auslöst, wie oben beschrieben. Das Programm LabChart zeichnete während des gesamten Experiments den Kontraktionszustand des Gewebes in jeder Kammer auf. Nach Erreichen eines Plateaus der über den Kraftübertragungsarm aufgezeichneten Kontraktion wurden alle Organbad-Kammern zweimal mit Krebs-Henseleit Lösung gespült und neu befüllt, um sicherzugehen, dass das komplette KCl aus den Kammern ausgewaschen wurde, um die spätere Kontraktion nicht zu beeinflussen.

Nach Erreichen einer erneuten Basislinie, die sich nach ca. 10 Minuten eingestellt hatte, konnte der zu untersuchende Inhibitor in die betreffenden Kammern hinzugegeben werden. Die Kammern für den Inhibitor beziehungsweise die Kontrollen wurden zufällig ausgewählt und variierten von Versuch zu Versuch (pro Versuch bzw. Prostata jeweils 2 Kammern mit Inhibitor, und 2-3 Kammern ohne Inhibitor). Nach weiteren 30 Minuten wurden die Versuche mit den verschiedenen Mitteln der Kontraktion getestet. In die Kammern ohne Inhibitor wurde eine entsprechende Menge des Lösungsmittels gegeben, welches für die Anfertigung der Inhibitor-Lösungen verwendet wurden, also Dimethylsulfoxid (DMSO).

1.	Einspannen der Organbad-Kammern mit Frischgewebepräparaten derselben Prostata
2.	Einstellung eines konstanten Tonus (ca. 5 mN) während etwa 45minütiger Vorspannungsphase
3.	Zugabe von 400 µl einer 2 mM KCl-Lösung
4.	3-maliges Auswaschen der Organbadkammern mit Krebs-Henseleit Lösung
5.	Randomisierte Zugabe des Inhibitors in 2 der 4 Organbadkammern bzw. von DMSO für Kontrollen
6.	30 minütige Inkubationszeit
7.	Konzentrations-Wirkungs-Kurven mit Agonisten bzw. Frequenz-Wirkungskurve mit EFS

Tab. 5: Ablauf der Organbadversuche.

3.2.3. Kontraktionen des Prostatagewebes

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Konstriktoren der glatten Muskulatur des Prostatagewebes getestet, welche zu unterschiedlichen Aussagen kamen. Durch die Benutzung zahlreicher Agonisten können unterschiedliche Vermutungen über den benutzten Inhibitor, seine genaue Wirkungsweise und seine Angriffspunkte getroffen werden. Die Kontraktion wurde ausgelöst durch Noradrenalin, Phenylephrin, U46619, Endothelin 1-3 sowie durch die Elektrische Feld Stimulation (EFS). Im nächsten Schritt wird beschrieben, wie diese Stoffe die Kontraktion auslösen - erst dann kann man verstehen wie eine potentielle Inhibition, welche im Ergebnisteil besprochen wird, funktionieren kann.

3.3.1. Adrenerge Stimulation mit Noradrenalin und Phenylephrin

In diesen Versuchen wurden die Gewebeproben mit Noradrenalin und Phenylephrin zur Kontraktion gebracht. Noradrenalin ist ein Katecholamin und kommt im Körper als

endogener Neurotransmitter vor. Es aktiviert α_1 , α_2 und β -Rezeptoren. Phenylephrin hingegen ist ein α_1 -spezifischer Adrenozeptor Agonist.

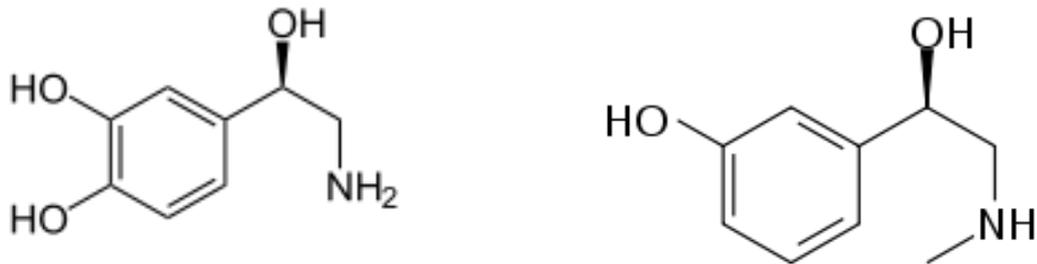


Abb. 6: Strukturformeln von Noradrenalin (links) und Phenylephrin (rechts).

Die Stammlösungen von Noradrenalin bzw. Phenylephrin (jeweils 10 mM) wurden stets unmittelbar vor dem Experiment frisch angesetzt. Zur Anfertigung wurde eine beliebige Menge Noradrenalin bzw. Phenylephrin im Bereich zwischen 1 mg bis 3 mg abgewogen und dann mithilfe des Quotienten aus der eingewogenen Masse und dem hundertstel des Molekulargewichts der jeweiligen Substanz das benötigte Volumen der Lösungssubstanz errechnet. Bei der Lösungs- bzw. Trägersubstanz handelte es sich um destilliertes Wasser, in dem die Agonisten gelöst wurden. Um geringere Konzentrationen zu erhalten, wurden von den Stammlösungen jeweils Verdünnungsreihen angefertigt. Um die Konzentrations-Wirkungs-Kurven zu erhalten wurden die Stoffe nach unten folgendem Pipettierschema in die Organbad-Kammern hinzugegeben.

[Noradrenalin, Phenylephrin] Stammlösung	Appliziertes Volumen (verdünnt)	[Noradrenalin, Phenylephrin] finale Konzentration
0,1 mM	10 μ l	0,1 μ M
0,1 mM	20 μ l	0,3 μ M
1 mM	7 μ l	1 μ M
1 mM	20 μ l	3 μ M
10 mM	7 μ l	10 μ M
10 mM	20 μ l	30 μ M
10 mM	70 μ l	100 μ M

Tab. 6: Verdünnungsreihen und Pipettierschema von Noradrenalin und Phenylephrin, mit Stammlösung, appliziertem Volumen und finaler Konzentration im Organbad. Bei Lösungsmittel und Verdünnungsmedium handelte es sich um destilliertes Wasser

3.3.2. Kontraktion durch das Thromboxan-Analogon U46619

Thromboxan ist ein Biomolekül, das mit den Prostaglandinen verwandt ist. Es wird aus dem Vorprodukt Arachidonsäure gebildet und kommt hauptsächlich in Thrombozyten vor, daher der Name [168]. Da das Thromboxan mit einer Halbwertszeit von 32 Sekunden äußerst instabil ist, wird für den Versuch mit U46619 ein stabiles Analogon benutzt [168, 211].

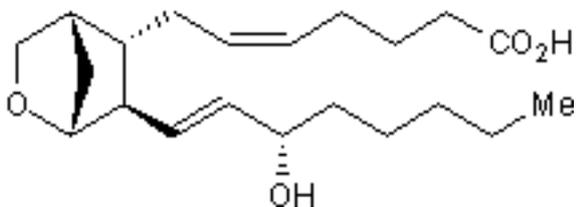


Abb. 7: Strukturformel von U46619 [212].

Die chemische Bezeichnung für den Stoff ist 9,11-Dideoxy-9 α ,11 α -methanoepoxy prostaglandin F2 α . U46619 wurde als 10 mM-Stammlösung mit absolutem Ethanol (>99 %) angesetzt und auch verdünnt. Die Lagerung erfolge bei -80C. Im Organbad führt dieser Stoff, ebenso wie die α_1 -adrenerge Stimulation, durch Aktivierung der PLC/IP₃-Ca²⁺- sowie RhoA/Rho-Kinase-Signalwege zur Prostatakontraktion [168, 211].

[U46619] Stammlösung	Appliziertes Volumen (verdünnt)	[U46619] finale Konzentration
0,1 mM	10 μ l	0,1 μ M
0,1 mM	20 μ l	0,3 μ M
1 mM	7 μ l	1 μ M
1 mM	20 μ l	3 μ M
10 mM	7 μ l	10 μ M
10 mM	20 μ l	30 μ M

Tab. 7: Verdünnungsreihen und Pipettierschema von U46619, mit Stammlösung, appliziertem Volumen und finaler Konzentration im Organbad. Bei Lösungsmittel und Verdünnungsmedium handelte es sich um absolutes Ethanol.

3.3.3. Kontraktion durch Endothelin 1-3

Endotheline sind Peptidhormone, die dem Namen entsprechend vor allem im Endothel produziert und sezerniert werden. Sie besitzen die stärkste bekannte vasokonstriktorische Aktivität. Es gibt mindestens drei humane paraloge Varianten des Endothelins, die alle aus 21 Aminosäuren aufgebaut sind. Endotheline vermitteln ihre Wirkung über G-Protein gekoppelte Rezeptoren, welche durch Aktivierung zur Kontraktion glatter Muskelzellen führen.

Auch von den verschiedenen Endothelinen wurden Stammlösungen mit destilliertem Wasser angefertigt, welche bei -20C gelagert wurden. Sowohl Endothelin-1 als auch Endothelin-3

ließen sich sehr gut lösen, nämlich 1 mg in 1 ml. Endothelin-2 jedoch löste sich schlechter, und sicher erst bei der dreifachen Menge destilliertem Wasser, also 1 mg in 3 ml.

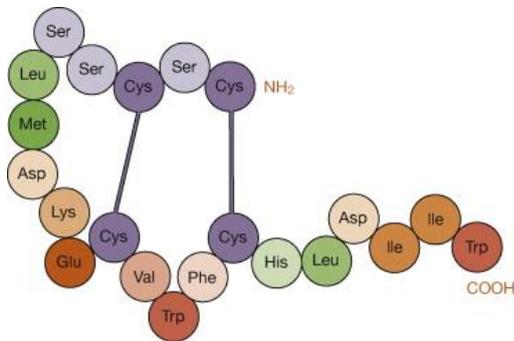


Abb. 8: Aminosäuren-Struktur von Endothelin-1 [213].

[Endothelin-1] Stammlösung	Appliziertes Volumen (verdünnt)	[Endothelin-1] finale Konzentration
0,4 mM	2,5 µl	0,1 µM
0,4 mM	5,0 µl	0,3 µM
0,4 mM	17,5 µl	1 µM
0,4 mM	50,0 µl	3 µM

Tab. 8: Verdünnungsreihen und Pipettierschema von Endothelin-1, mit Stammlösung, appliziertem Volumen und finaler Konzentration im Organbad. Bei Lösungsmittel und Verdünnungsmedium handelte es sich um destilliertes Wasser.

[Endothelin-2] Stammlösung	Appliziertes Volumen (verdünnt)	[Endothelin-2] finale Konzentration
0,13 mM	7,5 µl	0,1 µM
0,13 mM	15,0 µl	0,3 µM
0,13 mM	52,5 µl	1 µM
0,13 mM	150,0 µl	3 µM

Tab. 9: Verdünnungsreihen und Pipettierschema von Endothelin-2, mit Stammlösung, appliziertem Volumen und finaler Konzentration im Organbad. Bei Lösungsmittel und Verdünnungsmedium handelte es sich um destilliertes Wasser.

[Endothelin-3] Stammlösung	Appliziertes Volumen (verdünnt)	[Endothelin-3] finale Konzentration
0,4 mM	2,5 µl	0,1 µM
0,4 mM	5,0 µl	0,3 µM
0,4 mM	17,5 µl	1 µM
0,4 mM	50,0 µl	3 µM

Tab. 10: Verdünnungsreihen und Pipettierschema von Endothelin-3, mit Stammlösung, appliziertem Volumen und finaler Konzentration im Organbad. Bei Lösungsmittel und Verdünnungsmedium handelte es sich um destilliertes Wasser.

3.3.4. Elektrische Feld Stimulation

Die EFS ermöglicht es, Aktionspotentiale zu simulieren. Durch definierte elektrische Impulse, die mit Hilfe eines Generators von außen in die Organbadkammern appliziert werden, kommt es zur Ausschüttung verschiedener endogener Neurotransmitter in den Gewebepreparaten, die

anschließend zu Kontraktion führen können. Diese Simulation an den Organbädern kommt den physiologischen Bedingungen sehr nah.

Das Organbad, mit welcher die EFS durchgeführt wurde, stammt von der Firma Föhr Medical Instruments (FMI, Darmstadt). Das Gerät besitzt fünf Organbad-Kammern, die jeweils über zwei gegenüber liegende Platinplatten verfügen, zwischen denen die Frischpräparate in einen Kraftmesser eingespannt sind. Über einen Stromapplikator können Stromimpulse verschiedener Länge und Stärke abgegeben werden, die Kontraktionen des Gewebes auslösen.

Stromstärke/Frequenz				
2Hz	4Hz	8Hz	16Hz	32Hz

Tab. 9: Stromstärke/Frequenz, mit dem die EFS-Versuche durchgeführt wurden.

3.4 Inhibitoren

In der vorgestellten Arbeit wurden die Effekte von zwei verschiedenen Inhibitoren getestet, welche selektiv verschiedene GEFs hemmen. Der Schwerpunkt lag dabei auf Secin H3, einem GEF-Inhibitor, welcher von der Firma Tocris Bioscience (USA) bezogen wurde. Wie in der Einleitung beschrieben handelt, es sich bei Secin H3 um einen GEF-Inhibitor, der Selektivität gegenüber kleinen GEFs der Cytohesin Familie zeigt. Die chemische Bezeichnung des Stoffes lautet *N*-[4-[5-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-3-methoxy-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl]phenyl]-2-(phenylthio)acetamide.

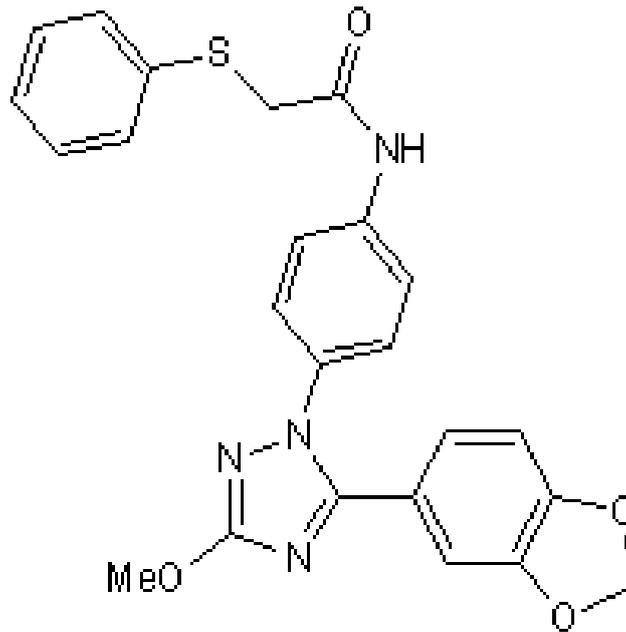


Abb. 9: Strukturformel von SecinH3 [214].

Secin H3 wurde als 10 mM Stammlösung angesetzt, wobei das Secin H3 in DMSO gelöst wurde. In die Organbadkammern (gefüllt mit 10 ml Krebs-Henseleit-Lösung) wurden jeweils 30 μ L der 10 mM Stammlösung appliziert. So betrug die finale Konzentration des Inhibitors im Organbad 30 μ M.

Beim dem anderen, hier verwendeten Inhibitor handelt es sich ITX 3, ebenfalls bezogen über Torcis Bioscience (USA). Bei ITX 3 handelt es sich um einen selektiven Inhibitor der TrioN RhoGEF Aktivität. Dadurch kann ITX 3 den Austausch von GDP zu GTP bei den kleinen, monomeren G-Proteinen RhoG und Rac1 hemmen. Die vollständige chemische Bezeichnung lautet *E*-2-[(2,5-Dimethyl-1-phenyl-1*H*-pyrrol-3-yl)methylene]thiazolo[3,2-*a*]benzimidazol-3(2*H*)-one.

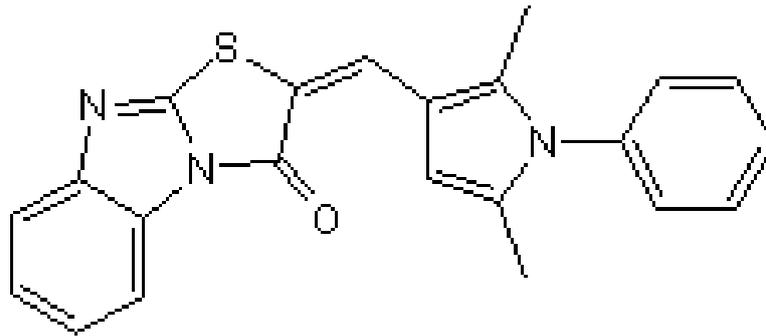


Abb. 10: ITX 3 Strukturformel [208].

In der vorliegenden Arbeit wurden nun die Effekt von Secin H3 auf die Noradrenalin-, Phenylephrin-, U46619-, Endothelin 1-3- und EFS-induzierten Kontraktionen getestet. Zusätzlich wurden exemplarisch die Effekte von ITX 3 auf die Noradrenalin-induzierte Kontraktion untersucht.

3.5. Lösungen und Puffer

Der Transport der Prostaten vom Operationssaal des Klinikums Großhadern bis zur Gewebeentnahme in der Pathologie (Campus Großhadern), sowie der weitere Transport der Proben von der Pathologie bis zu urologischen Forschungslabor erfolgte in Custodiolscher Lösung. Custodiol ist eine Flüssigkeit, die zur Organprotektion bzw. zum Transport von Transplantaten und Organen vorgesehen ist. Die Zusammensetzung der Lösung ist in Tabelle 11 angegeben.

Bestandteil	Menge in [g]	Konzentration in [mmol]
Natriumchlorid	0,8766	15,0
Kaliumchlorid	0,6710	9,0
Magnesiumchlorid x 6 H ₂ O	0,8132	4,0
Histidinhydrochlorid x H ₂ O	3,7733	18,0
Histidin	27,9289	180,0
Tryptophan	0,4085	2,0
Mannitol	5,4651	30,0
Calciumchlorid x 2 H ₂ O	0,0022	0,015
Kaliumhydrogen-2-oxopentandioat	0,1842	1,0

Tab. 11: Zusammensetzung von 1000 ml Lösung Custodiol

Die Versuche im Organbad fanden in Krebs-Henseleit-Lösung statt. An den Versuchstagen wurde die Lösung frisch zubereitet. Zur Herstellung wurden zwei verschiedene Stamm-Lösungen (Krebs-Henseleit 1 und Krebs-Henseleit 2) benutzt. Für die Versuche wurden 40 ml der KH-1 Lösung mit 1 Liter destilliertem Wasser vermischt. Zusätzlich wurden 1,63 g Glucose hinzugefügt. Diese Mischung wurde dann 20 Minuten in einem 37 °C warmen Wasserbad gewärmt und parallel mit Carbogen (95% O₂, 5% CO₂) begast. Anschließend wurden 40 ml der KH-2 Lösung hinzugefügt und weitere 5 Minuten im Wasserbad begast. Anschließend wurde diese Lösung in den Experimenten eingesetzt. Die Zusammensetzung der Stamm-Lösungen ist in Tabellen 12 und 13 angegeben.

Bestandteile	chem. Bezeichnung	Gewicht
Natriumchlorid	NaCl	172,5 g
Kaliumchlorid	KCl	8,75 g
Calciumchlorid-Dihydrat	CaCl ₂ x2H ₂ O	9,36 g
Kaliumdihydrogenphosphat	KH ₂ PO ₄	4,05 g
Magnesiumsulfat-Heptahydrat	MgSO ₄ x7H ₂ O	7,34 g
destilliertes Wasser	dest. H ₂ O	1000 ml

Tab. 12: Zusammensetzung von 1000 ml KH-1 Lösung.

Bestandteile	chem. Bezeichnung	Gewicht
Natriumbikarbonat	NaHCO ₃	52,5 g
destilliertes Wasser	dest. H ₂ O	1000 ml

Tab. 13: Zusammensetzung von 1000 ml KH-2 Lösung.

3.6. Berechnung und Auswertung der Konzentrations- und Frequenz-Wirkungs-Kurven

Um die Versuche aufzuzeichnen und später auszuwerten, wurde das Programm „DataPad“ benutzt. Bei der Auswertung wurden sowohl die Werte der Basislinien als auch die jeweiligen Maxima der Kontraktions-Kurven in den entsprechenden Konzentrations-Intervallen der Agonisten abgelesen und notiert. Die Daten wurden dann in Excel-Tabellen exportiert. Die Konzentrations- und Frequenz-Wirkungs-Kurven wurden dann aus den Rohdaten berechnet. Dazu wurden jeweils Mittelwerte +/- Standardfehler (standard error of the mean, SEM) aus allen Experimenten einer Versuchsreihe bestimmt. Um eine Vergleichbarkeit der heterogenen

Prostatagewebestücke zu gewährleisten (s. o.), wurden alle Kontraktions-Werte als prozentualer Anteil (%) der KCl-induzierten Kontraktion ausgedrückt.

Zusätzlich wurden die Ergebnisse statistisch ausgewertet. Hierzu wurden die Gruppen mit einem Zweiprobentest miteinander verglichen. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5 % ($p < 0,05$) wurde ein statistisch signifikanter Unterschied angenommen. Auf diese Weise wurden die Kontrollgruppen von den Inhibitorgruppen miteinander verglichen (DMSO vs. Inhibitor).

4 Ergebnisse

4.1 Effekte von Secin H3 auf die Noradrenalin-induzierte Kontraktion

Noradrenalin (0,1-100 μM) induzierte Konzentrations-abhängige Kontraktionen der humanen Prostatagewebe. Secin H3 (30 μM) führte zu signifikanten Hemmungen der Noradrenalin-induzierten Kontraktionen (n=10 Prostaten). Signifikante Hemmungen wurden bei 3 μM (p=0,044), 10 μM (p=0,0349), 30 μM (p=0,012) und 100 μM (p=0,016) Noradrenalin beobachtet.

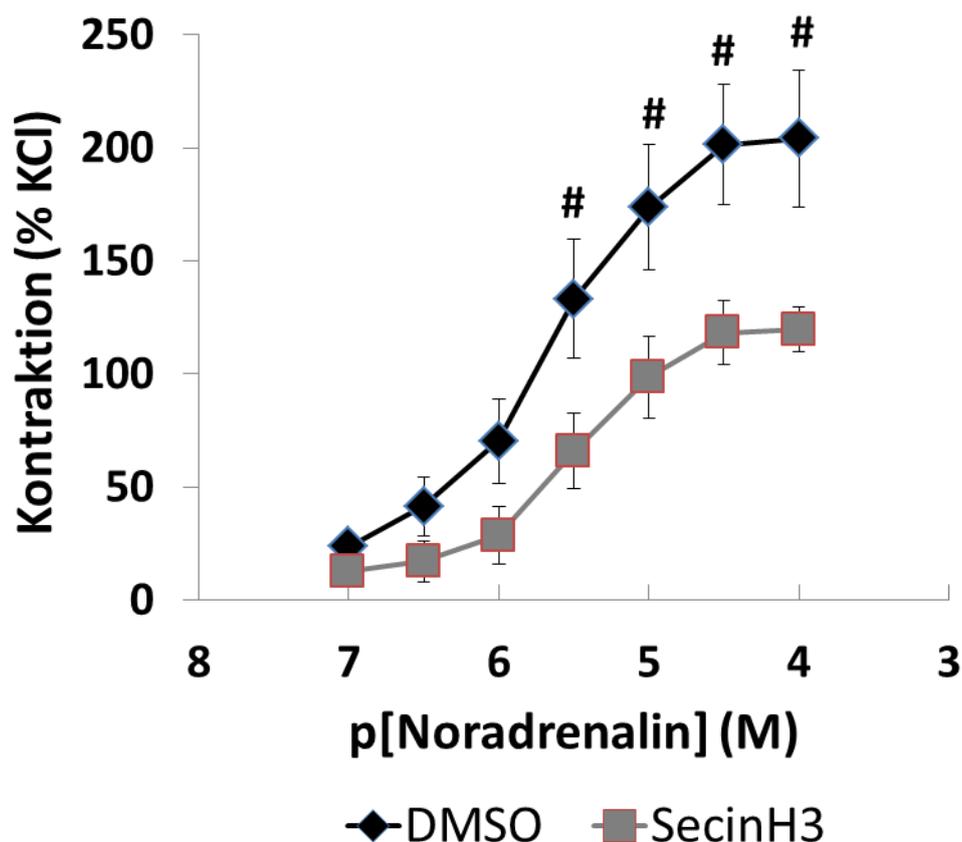


Abb. 11: Effekte von Secin H3 (30 μM) auf die Noradrenalin-induzierte Kontraktion von periurethralem, humanem Prostatagewebe. Gezeigt sind Daten von allen Experimenten dieser Serie mit Prostaten von n=10 Patienten, wobei in jedem Experiment Proben aus derselben Prostata mit und ohne Inhibitor untersucht wurden (Mittelwerte \pm SEM; # p<0,05).

4.2 Effekte von Secin H3 auf die Phenylephrin-induzierte Kontraktion

Phenylephrin (0,1-100 μM) induzierte Konzentrations-abhängige Kontraktionen der humanen Prostatagewebe. Secin H3 (30 μM) führte zu signifikanten Hemmungen der Phenylephrin-induzierten Kontraktionen (n=11 Prostaten). Signifikante Hemmungen wurden bei 1 μM (p=0,029), 3 μM (p=0,041), 10 μM (p=0,029) und 30 μM (p=0,032) Phenylephrin beobachtet.

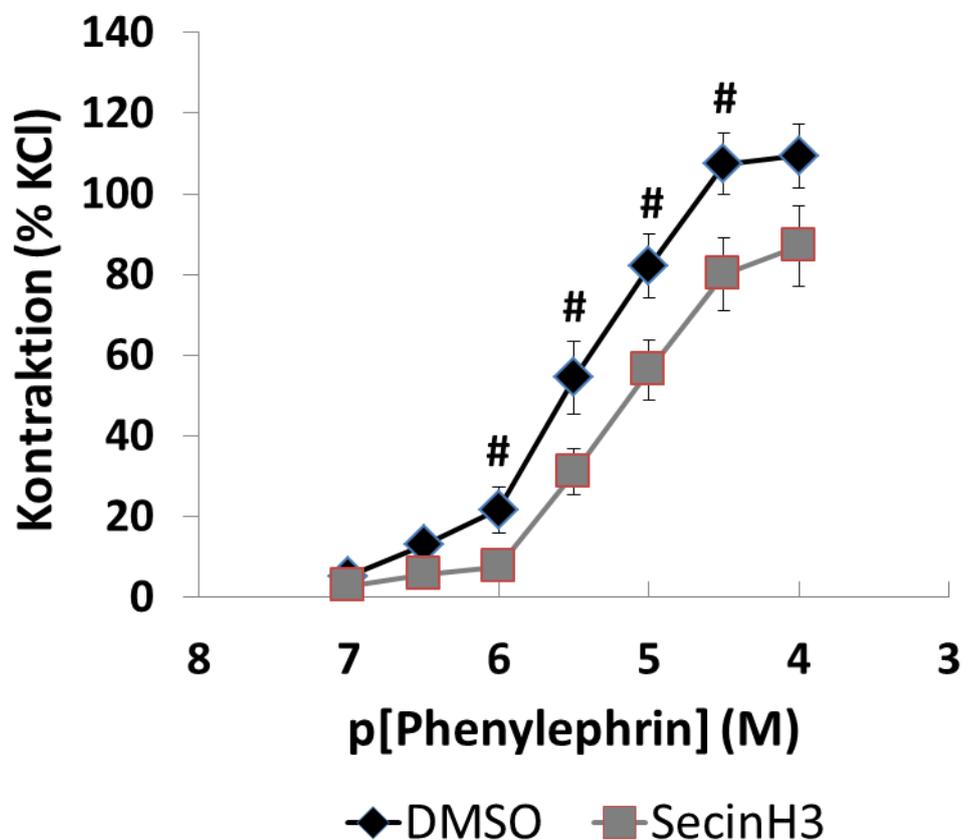


Abb. 12: Effekte von Secin H3 (30 μM) auf die Phenylephrin-induzierte Kontraktion von periurethralem, humanem Prostatagewebe. Gezeigt sind Daten von allen Experimenten dieser Serie mit Prostaten von n=11 Patienten, wobei in jedem Experiment Proben aus derselben Prostata mit und ohne Inhibitor untersucht wurden (Mittelwerte \pm SEM; # p<0,05).

4.3 Effekte von Secin H3 auf die U46619-induzierte Kontraktion

U46619 (10 nM-30 μ M) induzierte Konzentrations-abhängige Kontraktionen der humanen Prostatagewebe. Secin H3 (30 μ M) führte zu signifikanten Hemmungen der U46619-induzierten Kontraktionen (n=7 Prostaten). Signifikante Hemmungen wurden bei 0,01 μ M (p=0,047) und 0,1 μ M (p=0,048) U46619 beobachtet. Effekte Hemmungen, mit p-Werten unter 0,1 wurden bei 0,03 μ M, 0,3 μ M und 1 μ M U46619 beobachtet.

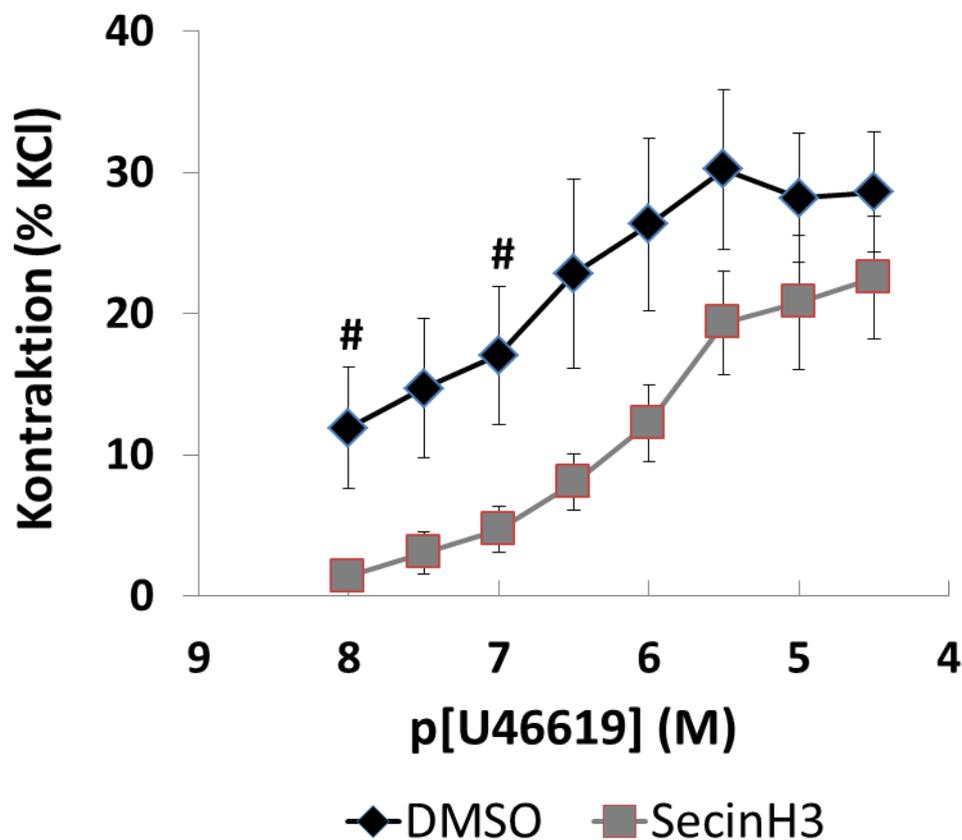


Abb. 13: Effekte von Secin H3 (30 μ M) auf die U46619-induzierte Kontraktion von periurethralem, humanem Prostatagewebe. Gezeigt sind Daten von allen Experimenten dieser Serie mit Prostaten von n=7 Patienten, wobei in jedem Experiment Proben aus derselben Prostata mit und ohne Inhibitor untersucht wurden (Mittelwerte \pm SEM; # p<0,05).

4.4 Effekte von Secin H3 auf die Endothelin-1-induzierte Kontraktion

Endothelin-1 (100 nM-3 μ M) induzierte Konzentrations-abhängige Kontraktionen der humanen Prostatagewebe. Secin H3 (30 μ M) führte zu signifikanten Hemmungen der Endothelin-1-induzierten Kontraktionen (n=10 Prostaten). Signifikante Hemmungen wurden bei 0,1 μ M (p=0,026), 1 μ M (p=0,046) und 3 μ M (p=0,022) Endothelin-1 beobachtet. Eine effektive Hemmung (p=0,068) wurde zudem bei 0.3 μ M beobachtet.

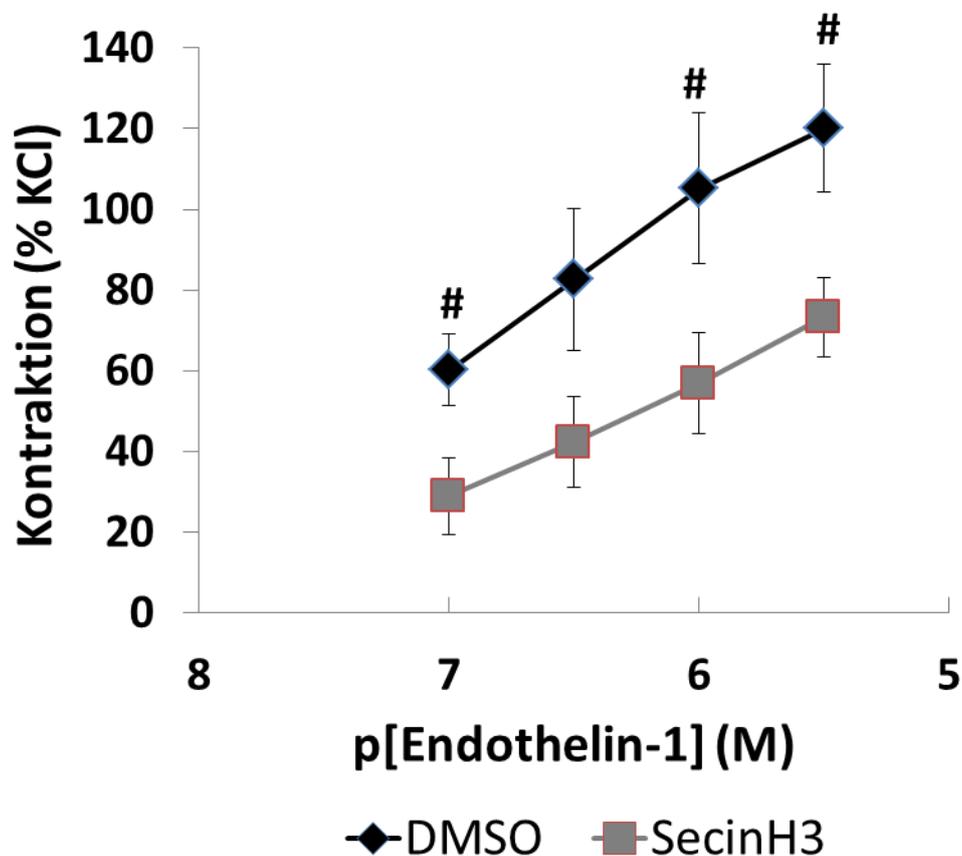


Abb. 14: Effekte von Secin H3 (30 μ M) auf die Endothelin-1-induzierte Kontraktion von periurethralem, humanem Prostatagewebe. Gezeigt sind Daten von allen Experimenten dieser Serie mit Prostaten von n=10 Patienten, wobei in jedem Experiment Proben aus derselben Prostata mit und ohne Inhibitor untersucht wurden (Mittelwerte \pm SEM; # p<0,05).

4.5 Effekte von Secin H3 auf die Endothelin-2-induzierte Kontraktion

Endothelin-2 (100 nM-3 μ M) induzierte Konzentrations-abhängige Kontraktionen der humanen Prostatagewebe. Secin H3 (30 μ M) führte zu keinerlei Hemmungen der Endothelin-2-induzierten Kontraktionen (n=4 Prostaten). Die Endothelin-2-induzierten Kontraktionen der DMSO- und Inhibitor-Gruppe zeigten sehr ähnliche Werte.

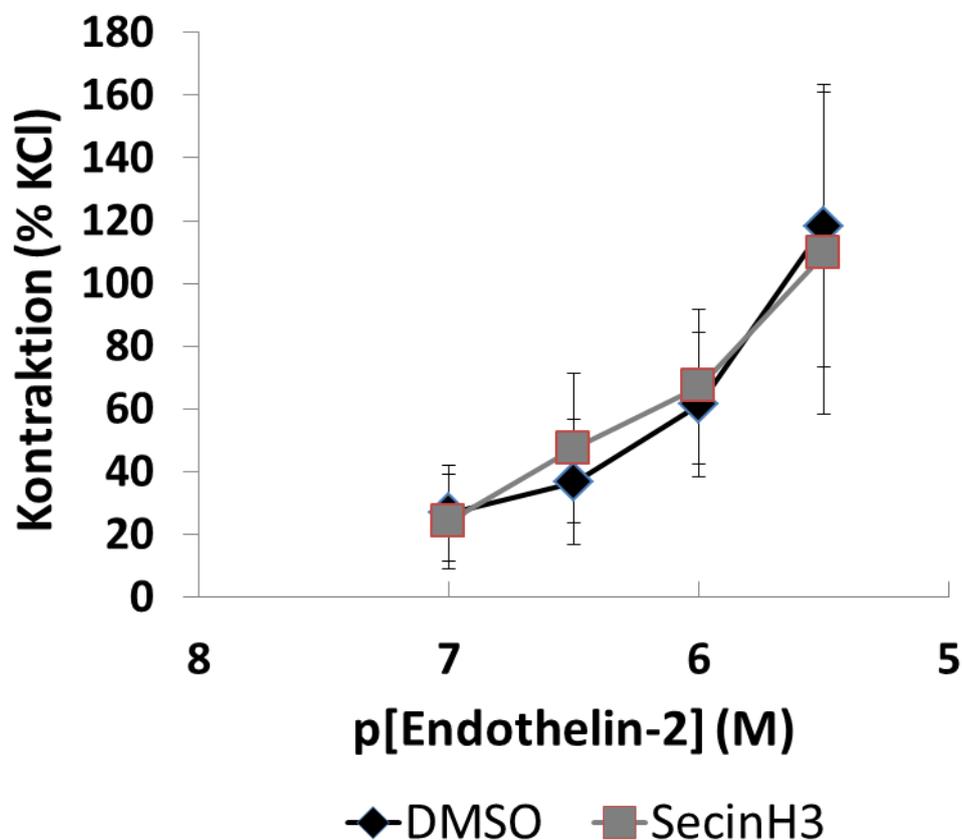


Abb. 15: Effekte von Secin H3 (30 μ M) auf die Endothelin-2-induzierte Kontraktion von periurethralem, humanem Prostatagewebe. Gezeigt sind Daten von allen Experimenten dieser Serie mit Prostaten von n=4 Patienten, wobei in jedem Experiment Proben aus derselben Prostata mit und ohne Inhibitor untersucht wurden (Mittelwerte \pm SEM).

4.6 Effekte von Secin H3 auf die Endothelin-3-induzierte Kontraktion

Endothelin-3 (100 nM-3 μ M) induzierte Konzentrations-abhängige Kontraktionen der humanen Prostatagewebe. Secin H3 (30 μ M) führte zu signifikanten Hemmungen der Endothelin-3-induzierten Kontraktionen (n=6 Prostaten). Signifikante Hemmungen wurden bei 0,3 μ M (p=0,049), 1 μ M (p=0,025) und 3 μ M (p=0,044) Endothelin-3 beobachtet.

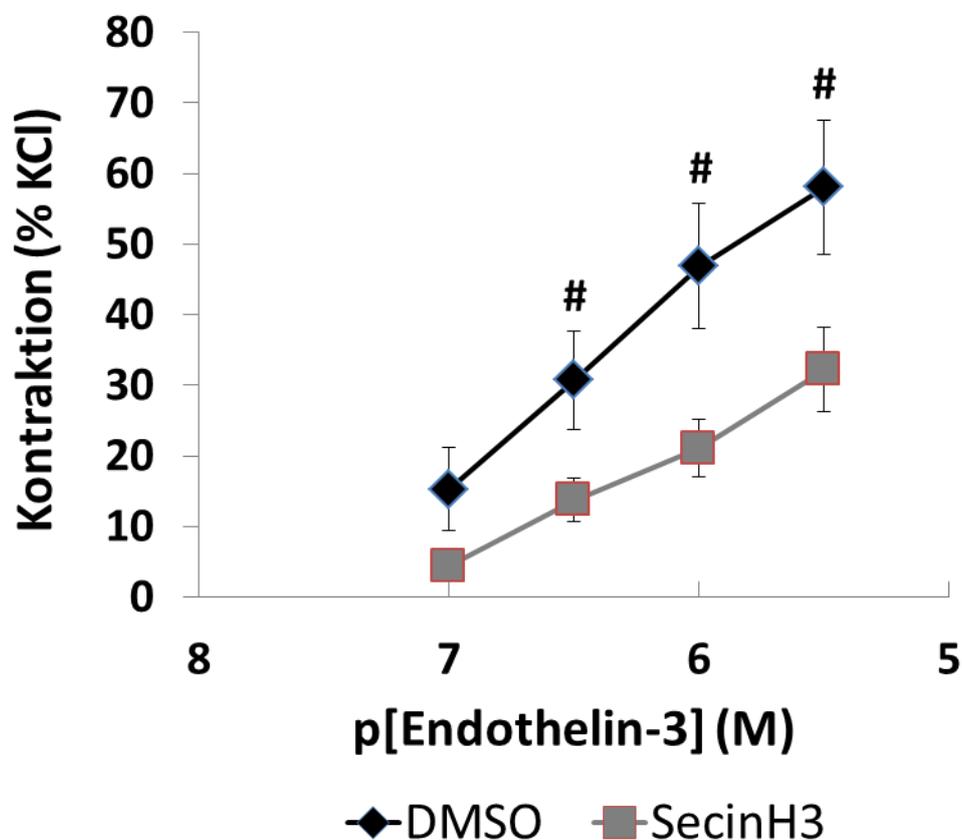


Abb. 16: Effekte von Secin H3 (30 μ M) auf die Endothelin-3-induzierte Kontraktion von periurethralem, humanem Prostatagewebe. Gezeigt sind Daten von allen Experimenten dieser Serie mit Prostaten von n=6 Patienten, wobei in jedem Experiment Proben aus derselben Prostata mit und ohne Inhibitor untersucht wurden (Mittelwerte \pm SEM; # p<0,05).

4.7 Effekte von Secin H3 auf die EFS-induzierte Kontraktion

EFS (2-32 Hz) induzierte Frequenz-abhängige Kontraktionen der humanen Prostatagewebe. Secin H3 (30 μ M) führte zu signifikanten Hemmungen der EFS-induzierten Kontraktionen (n=12 Prostata). Signifikante Hemmungen wurden bei 2 Hz (p=0,0002), 4 Hz (p=0,0098) und 8 Hz (p=0,044) beobachtet. Eine effektive Hemmung (p<0,08) wurde zudem bei 16 Hz beobachtet. Nach Applikation von Secin H3 betrug der EFS-induzierte Tonus etwa 50 % der EFS-induzierten Kontraktion der Kontrollen (DMSO).

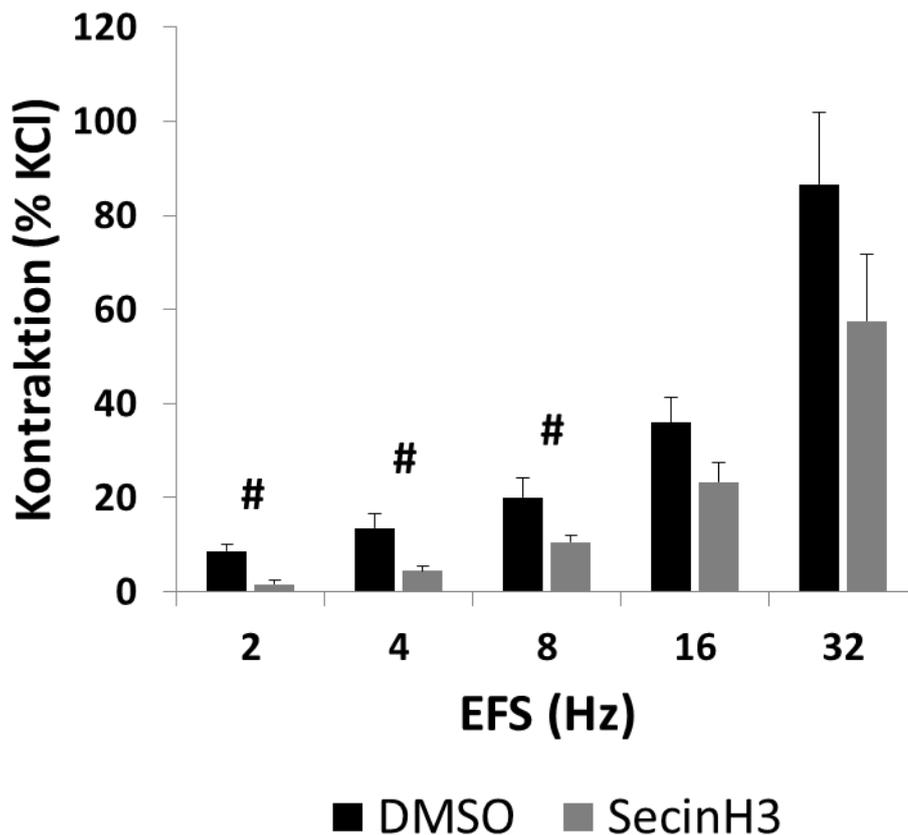


Abb. 17: Effekte von Secin H3 (30 μ M) auf die EFS-induzierte Kontraktion von periurethralem, humanem Prostatagewebe. Gezeigt sind Daten von allen Experimenten dieser Serie mit Prostata von n=12 Patienten, wobei in jedem Experiment Proben aus derselben Prostata mit und ohne Inhibitor untersucht wurden (Mittelwerte \pm SEM; # p<0,05).

4.8 Effekte von Tamsulosin auf die EFS-induzierte Kontraktion

Tamsulosin (300 nM) führte zu signifikanten Hemmungen der EFS-induzierten Kontraktionen (n=5 Prostaten). Signifikante Hemmungen wurden bei 8 Hz ($p=0,034$), 16 Hz ($p=0,0007$) und 32 Hz ($p=0,0097$) beobachtet. Eine effektive Hemmung ($p<0,06$) wurde zudem bei 4 Hz beobachtet. Ähnlich wie bei Secin H3 betrug der EFS-induzierte Tonus nach Applikation von Tamsulosin etwa 50 % der EFS-induzierten Kontraktion der Kontrollen (DMSO).

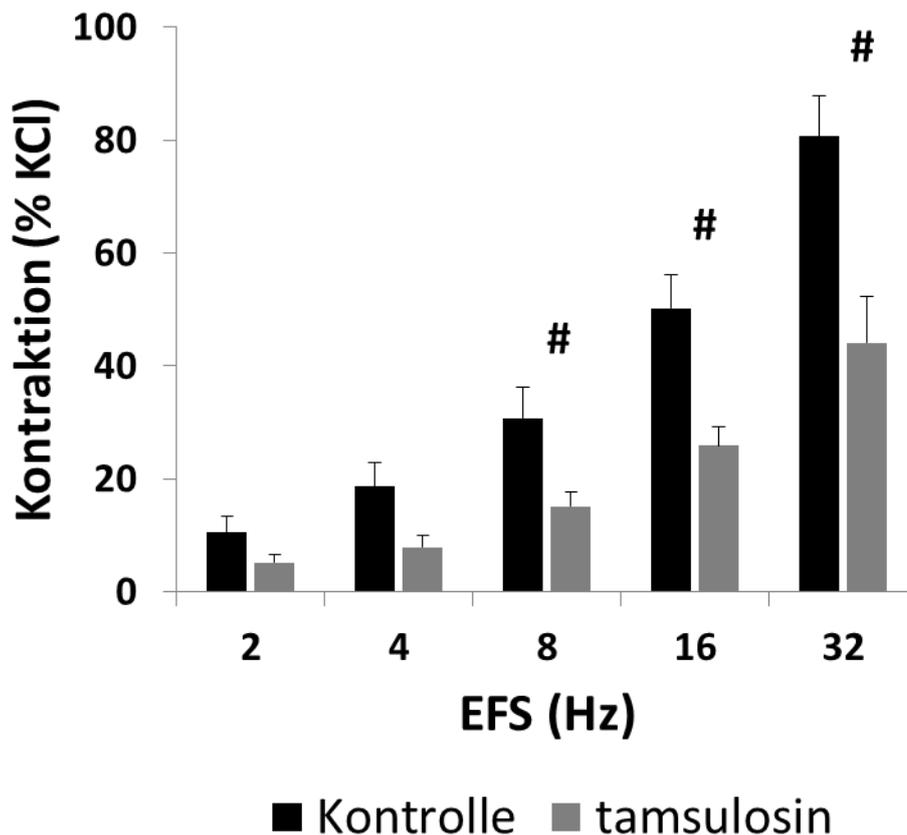


Abb. 18: Effekte von Tamsulosin (300 nM) auf die EFS-induzierte Kontraktion von periurethralem, humanem Prostatagewebe. Gezeigt sind Daten von allen Experimenten dieser Serie mit Prostaten von n=5 Patienten, wobei in jedem Experiment Proben aus derselben Prostata mit und ohne Inhibitor untersucht wurden (Mittelwerte \pm SEM; # $p<0,05$).

4.9 Effekte einer Secin H3/Tamsulosin-Kombination auf die EFS-induzierte Kontraktion

Die gleichzeitige Applikation von Secin H3 (30 μ M) und Tamsulosin (300 nM) führte zu stärkeren Hemmungen der EFS-induzierten Kontraktionen als Tamsulosin alleine (n=5 Prostaten). Nach kombinierter Zugabe von Secin H3 und Tamsulosin waren die EFS-induzierten Kontraktionen im Vergleich zur Tamsulosin-Gruppe significant vermindert. Dieser Unterschied war 4 Hz (p=0,013), 8 Hz (p=0,019), 16 Hz (p=0,013) und 32 Hz (p=0,018).

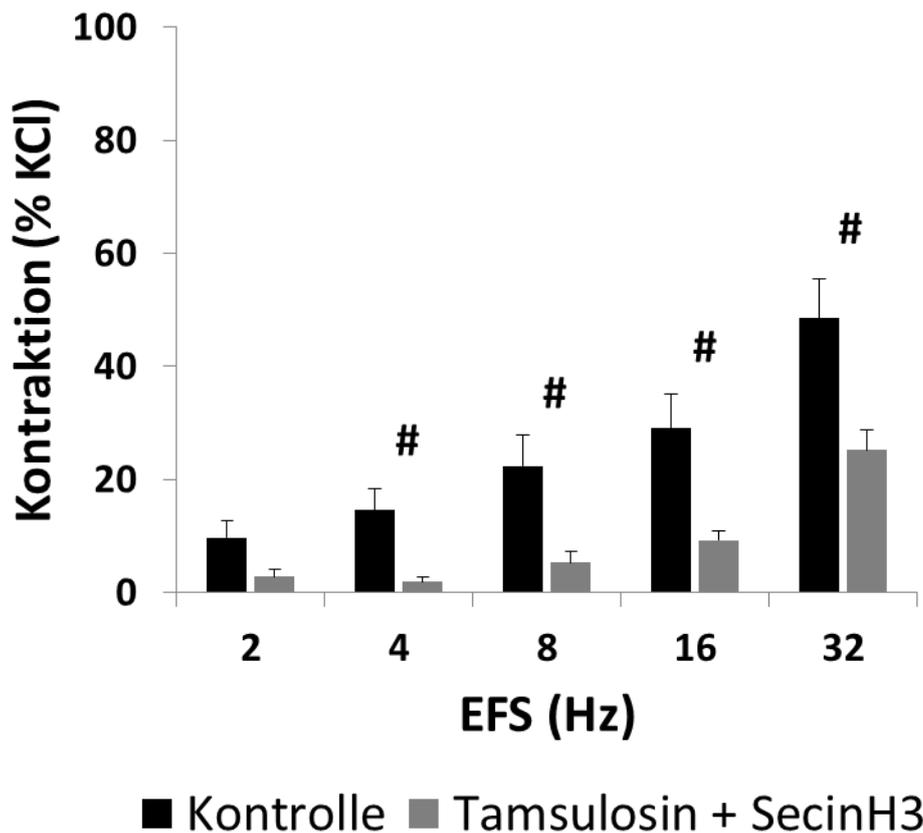


Abb. 19: Vergleich der EFS-induzierten Kontraktion von periurethralem, humanem Prostatagewebe nach gleichzeitiger, kombinierter Zugabe von Secin H3 (30 μ M) und Tamsulosin (300 nM) oder Zugabe von Tamsulosin (300 nM) alleine. Gezeigt sind Daten von allen Experimenten dieser Serie mit Prostaten von n=5 Patienten, wobei in jedem Experiment Proben aus derselben Prostata mit und ohne Inhibitor untersucht wurden (Mittelwerte \pm SEM; # p<0,05).

4.10 Effekte von 200 μM ITX3 auf die Noradrenalin-induzierte Kontraktion

ITX 3 in einer Konzentration von 200 μM führte zu keinerlei Hemmungen der Noradrenalin-induzierten Kontraktionen (n=5 Prostaten). Die Noradrenalin-induzierten Kontraktionen der DMSO- und Inhibitor-Gruppe zeigten sehr ähnliche Werte.

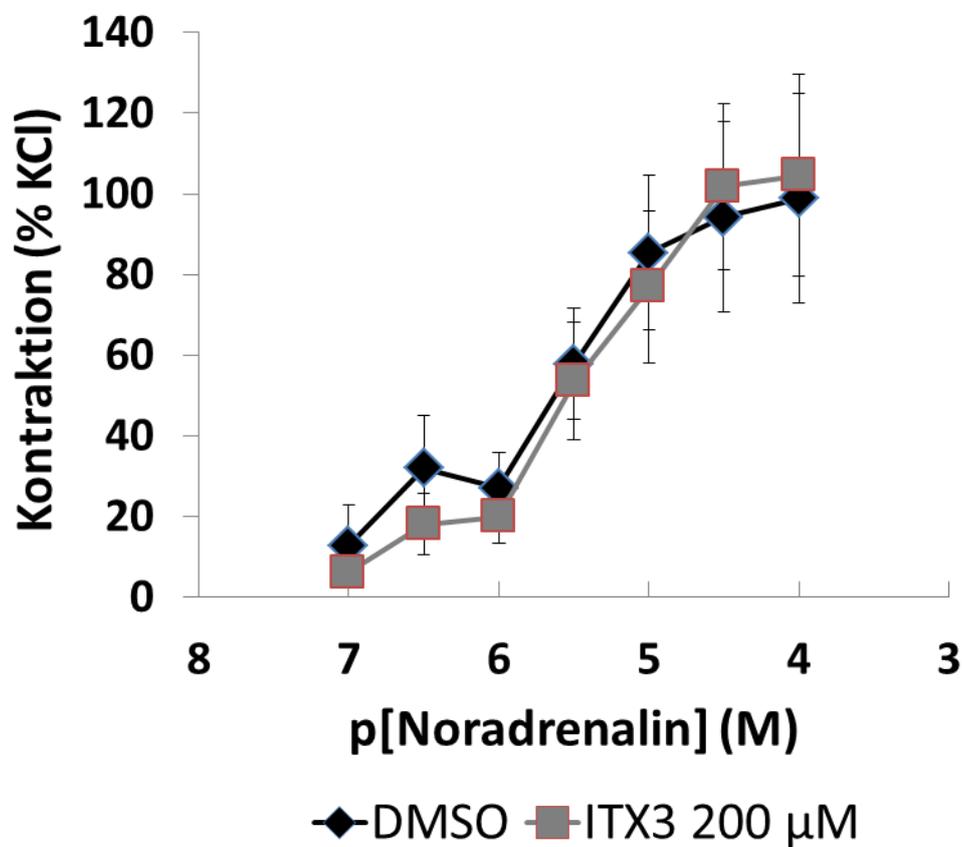


Abb. 20: Effekte von ITX3 (200 μM) auf die Noradrenalin-induzierte Kontraktion von periurethralem, humanem Prostatagewebe. Gezeigt sind Daten von allen Experimenten dieser Serie mit Prostaten von n=5 Patienten, wobei in jedem Experiment Proben aus derselben Prostata mit und ohne Inhibitor untersucht wurden (Mittelwerte \pm SEM).

4.11 Effekte von 600 μM ITX3 auf die Noradrenalin-induzierte Kontraktion

ITX 3 in einer Konzentration von 600 μM führte zu keinerlei Hemmungen der Noradrenalin-induzierten Kontraktionen (n=5 Prostaten). Die Noradrenalin-induzierten Kontraktionen der DMSO- und Inhibitor-Gruppe zeigten sehr ähnliche Werte.

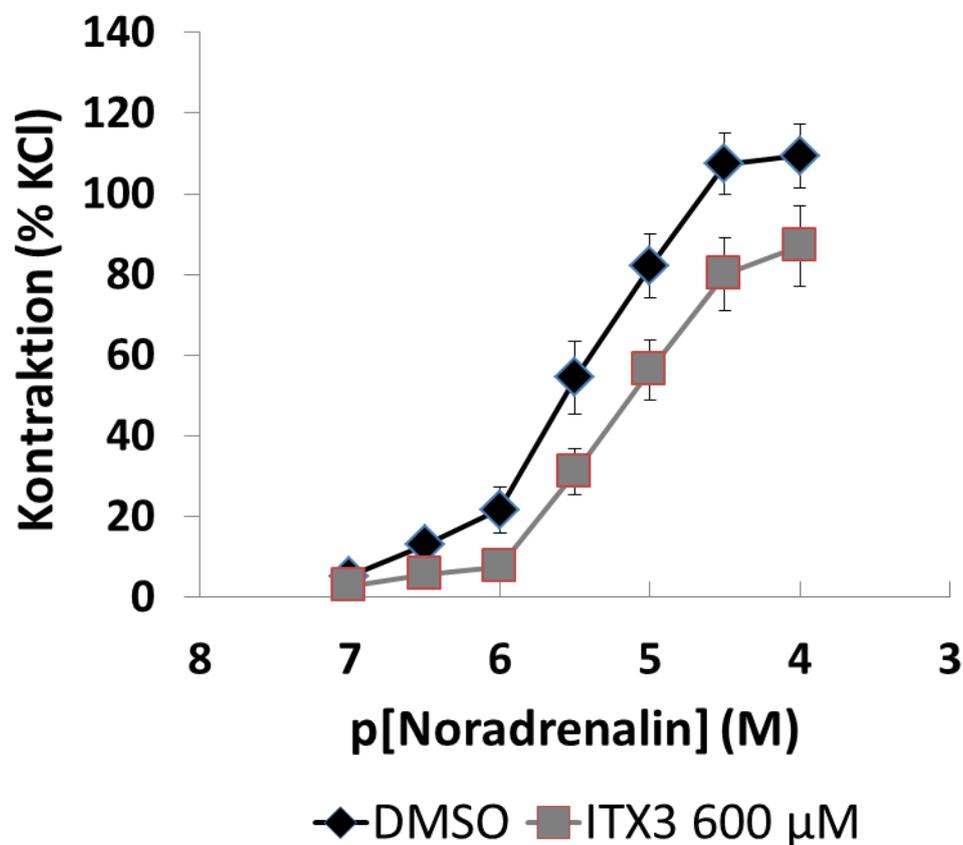


Abb. 21: Effekte von ITX3 (600 μM) auf die Noradrenalin-induzierte Kontraktion von periurethralem, humanem Prostatagewebe. Gezeigt sind Daten von allen Experimenten dieser Serie mit Prostaten von n=5 Patienten, wobei in jedem Experiment Proben aus derselben Prostata mit und ohne Inhibitor untersucht wurden (Mittelwerte \pm SEM).

5 Diskussion

Die Kontraktion der glatten Muskulatur in der Prostata spielt eine entscheidende Rolle bei der Entstehung und Therapie von Symptomen des unteren Harntraktes [42, 71, 203]. Bei vielen Patienten mit einer BPH kommt es durch einen erhöhten Tonus zu einer Verengung der Harnröhre, und so zu Behinderungen der Blasenentleerung und zu Beschwerden beim Wasserlassen [42, 71, 203]. Bei der weitverbreiteten Therapie mit α_1 -Blockern wird versucht, eine Erschlaffung der glatten Prostatamuskulatur und so eine Verbesserung der Symptome herbeizuführen [42, 71, 119, 203]. Obwohl die derzeitigen medikamentösen Therapien die Situation zahlreicher Patienten verbessert, sind die Ergebnisse insgesamt unzureichend [71, 203]. Daher sind ein verbessertes Verständnis der Prostatakontraktion auf molekularer Ebene, und neue Strategien zur Hemmung der Prostatakontraktion von großem Interesse [215]. Die Kontraktion der glatten Prostatamuskulatur wird durch die monomeren GTPasen RhoA und Rac vermittelt, bzw. begünstigt [71, 172, 200]. Solche GTPasen werden generell durch GTP-Austauschfaktoren, GEFs aktiviert [179, 201]. In der glatten Prostatamuskulatur wurden bislang jedoch weder die beteiligten GEFs identifiziert, noch konnte deren Bedeutung in funktionellen Studien betrachtet werden. Mit Hilfe eines GEF-Inhibitors, welcher selektiv die GEFs der Cytohesin-Familie hemmt, wurden hierzu in der vorliegenden Arbeit Untersuchungen an humanem Prostatagewebe vorgenommen. Die erzielten und hier präsentierten Ergebnisse zeigen, dass der Cytohesin-Inhibitor Secin H3 zu einer Hemmung der α_1 -adrenergen, der neurogenen, sowie der Endothelin- und Thromboxan-induzierten Kontraktion von humanem Prostatagewebe führt. Ein Vergleich mit dem α_1 -Blocker Tamsulosin zeigte, dass SecinH3 die neurogene Kontraktion mit ähnlicher Effektivität wie dieser hemmt, nämlich um ca. 50 %. Durch die Kombination von Secin H3 mit Tamsulosin konnte eine Hemmung erzielt werden, welche signifikant stärker war als die Hemmung durch Tamsulosin alleine. Im Gegensatz zu SecinH3 war ITX3, ein Inhibitor für den GEF Trion, ohne Effekte auf die α_1 -adrenerge Kontraktion. Diese Ergebnisse legen nahe, dass SecinH3-sensitive GEFs für die Kontraktion der glatten Muskulatur in der humanen Prostata von Bedeutung sind. SecinH3 bzw. SecinH3-sensitive GEFs könnten sich somit als Ansatzpunkt für neue Therapien eignen.

5.1 Verwendete Gewebe

In der hier präsentierten Arbeit wurden ausschließlich Gewebe verwendet, welche im Rahmen von radikalen, tumorbedingten Prostatektomien asserviert wurden. Dabei befinden sich mindestens 80 % der Tumore in der peripheren Zone der Prostata [6, 15]. Die hier eingesetzten Proben wurden dagegen aus der periurethralen Zone entnommen. Bei der makroskopischen Inspektion durch die asservierenden Pathologen wurde in keinem Fall ein Tumorbefall der periurethralen Zone erkannt.

Mindestens 80 % der Patienten, bei denen auf Grund von Prostatakrebs eine radikale Prostatektomie vorgenommen wird, zeigen gleichzeitig eine BPH [216, 217]. Diese kann jedoch unterschiedlich ausgeprägt sein. Das Vorhandensein einer BPH mit unterschiedlicher Ausprägung in Proben wie den hier verwendeten wurde zuvor im Labor des Promovenden gezeigt [164, 199, 200]. Dabei wurden wiederholt Western-Blot-Analysen für PSA durchgeführt, wobei PSA stets in allen Proben detektierbar war, jedoch mit stark schwankendem Gehalt [164, 199, 200]. Tatsächlich nimmt der PSA-Gehalt mit dem Grad der Hyperplasie zu, und wird mittlerweile durchaus als möglicher Indikator der BPH betrachtet [218]. Daher kann davon ausgegangen werden, dass die hier verwendeten Proben hyperplastisches, nicht-malignes Prostatagewebe darstellten.

Überdies konnten in solchen Western-Blot-Analysen auch Schwankungen des glattmuskulären Markers Calponin und des Drüsenmarkers Zytokeratin beobachtet werden [164, 199, 200]. Dies spiegelt unter anderem die unterschiedlichen Drüsen-Stroma-Anteile bzw. –Verhältnisse wider, welche in solchen Proben vorliegen und auch bei mikroskopischen Analysen auffallen [164, 199, 200]. Proben mit einem höheren Gehalt an glatter Muskulatur können im Organbad eine stärkere Kontraktion zeigen als Proben mit weniger glatter Muskulatur. Um Verzerrungen durch solche und andere Heterogenitäten auszugleichen, und um dennoch Effekte von Inhibitoren erkennen zu können, wurden sämtliche Agonisten-induzierten Kontraktionen auf die KCl-induzierte Kontraktion bezogen. Durch KCl wird eine Rezeptor-unabhängige Kontraktion ausgelöst, welche allein vom Anteil der kontraktionsfähigen Muskulatur abhängt [202]. Diese Vorgehensweise ist etabliert und

ermöglicht pharmakologische Untersuchungen in humanen Prostatagewebe [164, 168-170, 199, 200, 211].

Ein Vergleich zu nicht-hyperplastischem Gewebe war indes unmöglich, da solche Gewebe nicht zugänglich sind. Alternativ zur radikalen Prostatektomie können Prostatagewebe bei einer TURP gewonnen werden. Solche Resektionsspäne werden zwar gelegentlich von anderen Arbeitsgruppen ebenfalls für funktionale Messungen verwendet; jedoch sind die Gewebe stark traumatisiert. Insbesondere ist anzumerken, dass es sich hierbei erst Recht um hyperplastische Gewebe handelt, da die TURP zur Behandlung von schweren LUTS bei medikamentös austherapierten Patienten vorgenommen wird. Ein Vergleich zwischen hyperplastischem und nicht-hyperplastischem Gewebe wäre zudem von eher bedingtem Interesse. Aus klinischer Sicht ist allein die Situation im hyperplastischen Gewebe relevant.

5.2 Mögliche Rolle von Cytohesin-GEFs für die Kontraktion der glattmuskulären Prostataktraktion

Die glattmuskuläre Kontraktion in der Prostata wird durch Noradrenalin oder nicht-adrenerge Mediatoren wie Endotheline und Thromboxan ausgelöst [71, 203]. Während Noradrenalin als Neurotransmitter von sympathischen Neuronen freigesetzt wird, handelt es sich bei Endothelinen und Thromboxan vermutlich um parakrine, autokrine, oder humorale Faktoren [71, 168, 203, 211]. Alle haben gemeinsam, dass sie die Kontraktion durch Aktivierung von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren auslösen, also α_1 -Adrenozeptoren, Endothelin-Rezeptoren sowie Thromboxan-Rezeptoren [71, 72, 203]. Obwohl es sich um verschiedene Rezeptoren handelt, haben diese wiederum gemeinsam, dass sie auf der intrazellulären Seite an heterotrimere G-Proteine gekoppelt sind, welche dann verschiedene intrazelluläre, kontraktionsvermittelnde Signalkaskaden aktivieren [71, 72, 203]. Die verschiedenen Rezeptoren teilen sich zumindest einige dieser intrazellulären Signalkaskaden [71, 203]. Einer dieser Signalwege ist der RhoA/Rho-Kinase-Signalweg, welcher durch alle drei genannten Rezeptoren aktiviert wird [71, 203]. Wie in der Einleitung beschrieben, kommt es dabei in Folge der Rezeptor-Stimulation zu einer G-Protein-vermittelten Aktivierung der monomeren GTPase RhoA, welche sodann die Rho-Kinase aktiviert und so zur Kontraktion führt [71, 172, 203].

Essentieller Schritt bei der Aktivierung von monomeren GTPasen wie RhoA ist ein Austausch von GDP, welches an die inaktiven GTPasen gebunden ist, zu GTP [71, 179]. Durch die Beladung mit GTP werden diese GTPasen aktiviert [71, 179]. Dieser Austausch von GDP zu GTP wird generell durch GEFs, also GTP-Austauschfaktoren bewerkstelligt [71, 179]. Neben der glattmuskulären Kontraktion in verschiedenen Organen sind monomere GTPasen an einer Vielzahl von verschiedenen, teils zentralen Funktionen in allen Zelltypen beteiligt [219]. Über die GEFs, welche an der Aktivierung von RhoA bei der Kontraktion glatter Muskulatur beteiligt sind, war bislang jedoch nur wenig bekannt. Für die glattmuskuläre Kontraktion der Prostata fehlen nähere Angaben oder funktionale Studien zu „prokontraktilen“ GEFs bislang völlig. Bisherige Modelle beschränkten sich in der Regel auf die Darstellung von RhoA, welches durch heterotrimere G-Proteine aktiviert wird, ohne auf GEFs einzugehen [71, 72, 172, 203]. Die hier erzielten Ergebnisse legen ein Modell nahe, bei dem es anschließend an die Rezeptor-vermittelte Aktivierung heterotrimerer G-Proteine durch SecinH3-sensitive GEFs zur Aktivierung von RhoA kommt. In einem solchen Modell würden Cytohesine also die Verbindung zwischen G-Proteinen und RhoA darstellen, welche bisher kaum Berücksichtigung fand.

Ein solches Modell stellt jedoch keinesfalls die einzige Möglichkeit dar, über die Cytohesine an der Kontrolle der glattmuskulären Prostatakontraktion beteiligt sein könnten. Im Labor des Promovenden konnte vor kurzem gezeigt werden, dass neben RhoA die ebenfalls monomeren Rac-GTPasen ebenfalls an der Kontraktion bzw. ihrer Regulation beteiligt sind [200]. Ob die Rac-GTPasen dabei ebenso wie RhoA durch kontraktile Rezeptoren aktiviert wird oder ob die Rac-Aktivität in der Prostata durch Rezeptor-unabhängige Mechanismen kontrolliert wird, ist indes noch nicht bekannt. In jedem Fall muss aber auch hier von GEF-abhängigen Mechanismen der Rac-Aktivierung ausgegangen werden, woran auch Cytohesine bzw. Secin H3-sensitive GEFs beteiligt sein könnten.

Die vorgestellten Ergebnisse legen nahe, dass Cytohesine an der Kontrolle bzw. an der Vermittlung der Rezeptor-induzierten Kontraktion der glatten Muskulatur in der Prostata beteiligt sind, und zwar wie oben beschrieben über die Aktivierung von RhoA, oder Rac. Beide Modelle sind in Abb. 22 zusammengefasst. Denkbar wäre auch, dass Cytohesine die Aktivität beider GTPasen reguliert. Nachfolgende Studien im Labor des Promovenden

könnten klären, ob Secin H3 zu einer Hemmung der RhoA- oder Rac-Aktivität führt. Semiquantitative Untersuchungen zur Aktivität monomerer GTPasen in Gewebeproben sind über sog. Pulldown-Assays möglich. Aus früheren *in vitro* und *in vivo* Studien ist bekannt, dass SecinH3 die Aktivität von Rac-GTPasen hemmt [220, 221]. Allerdings wurde auch eine Aktivierung anderer GTPasen durch Cytohesine bekannt. So ist Cytohesin-2 offenbar bevorzugt an der Aktivierung der GTPase *ADP-ribosylation factor 6* (ARF6) beteiligt [222-225]. Vor diesem Hintergrund einschließlich der hier gezeigten Ergebnissen wäre es durchaus sinnvoll (sofern möglich), in zukünftigen Studien eine mögliche Rolle von ARF6 für die glattmuskuläre Kontraktion in der Prostata (und in anderen Organen) zu untersuchen.

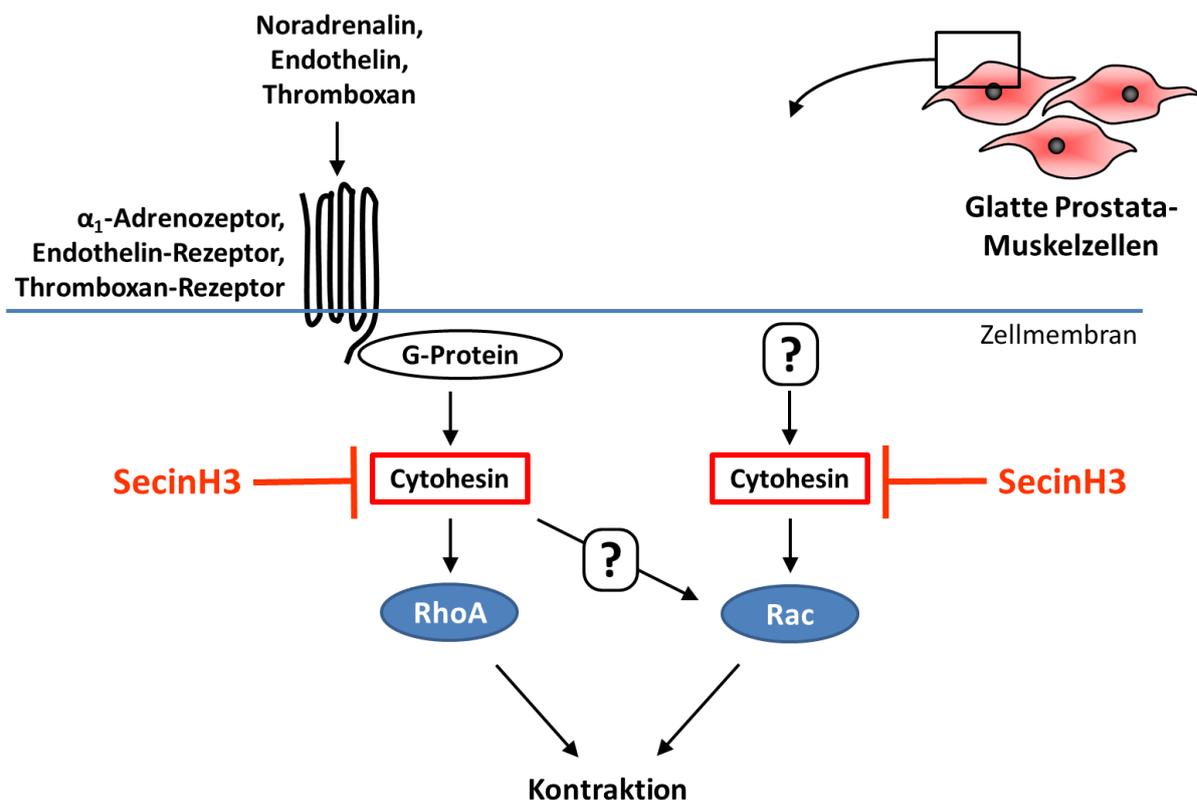


Abb. 22: Mögliche Modelle für eine Rolle von Cytohesinen für die Regulation der glattmuskulären Kontraktion in der Prostata. Denkbar sind zwei verschiedene Szenarien: 1) Cytohesine werden durch die kontraktile, G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (α_1 -Adrenozeptoren, Endothelin- und Thromboxan-Rezeptoren) aktiviert, und aktivieren ihrerseits direkt RhoA und/oder Rac. 2) Cytohesine aktivieren unabhängig von den genannten Rezeptoren Rac; dabei bleiben die Mechanismen, welche die Cytohesin/Rac-Aktivierung kontrollieren noch zu identifizieren. Daher wäre eine Hemmung sowohl von RhoA als auch von Rac durch SecinH3 denkbar.

Die vorgestellten Modelle würden sich mit Vorschlägen aus anderen Studien decken, welche sich keineswegs auf Untersuchungen der glattmuskulären Kontraktilität beschränkten. So wurde gezeigt, dass die Endothelin-1-induzierte Lipolyse in Adipozyten durch die sequentielle Aktivierung des Endothelin-Rezeptors A, einem SecinH3-sensitiven GEF, und ARF6 abhängt [226]. Weitere Modelle schlugen ebenfalls eine intrazelluläre Weiterleitung G-Protein-gekoppelter Rezeptor-Signale über eine Achse aus SecinH3-sensitiven GEFs und GTPasen vor [227]. Neben der Kopplung intrazellulärer Effektoren an G-Protein-gekoppelte Rezeptoren bewerkstelligen SecinH3-sensitive GEFs offenbar auch die Schaltung intrazellulärer Signalkaskaden an Rezeptor-Tyrosinkinasen, also den Wachstumsfaktor-Rezeptoren, etwa bei Tumorwachstum und -entstehung oder bei Differenzierungs- und Wachstumsprozessen [220, 228-232].

Verschiedene Studien an Zellkultur-Modellen legten bereits nahe, dass SecinH3 zu einem Zusammenbruch des Aktinzytoskeletts führen kann bzw. Zytoskelett-abhängige Prozesse (z. B. Migration) hemmt [222, 228, 233-235]. Tatsächlich ist eine korrekte und präzise Organisation der Aktinfilamente von essentieller Bedeutung für die glattmuskuläre Kontraktion [199, 200]. Dies umfasst die Polymerisation von monomerem Aktin (*globular actin*, G-Aktin) zu filamentenösem Aktin (F-Aktin), sowie die korrekte Anordnung und Verankerung an der Zellmembran bzw. extrazellulären Matrix [199, 200]. Untersuchungen im Labor des Promovenden zeigten kürzlich, dass diese Vorgänge in Stromazellen der Prostata u. a. durch Rac-GTPasen organisiert werden [200]. Auch RhoA ist entscheidend an der Organisation des Aktin-Zytoskelets beteiligt [236]. Insgesamt scheint es denkbar, dass SecinH3 in den hier verwendeten Prostatageweben ebenfalls durch Hemmung monomerer GTPasen zu einem Zusammenbruch der Aktin-Organisation führte und so deren Kontraktion hemmte.

Über die SecinH3-sensitiven GEFs hinaus ist zudem auch die Beteiligung von anderen GEFs an der RhoA- und Rac-Aktivierung in der glatten Prostatamuskulatur unbedingt denkbar. Für diese GEFs existieren bislang jedoch keine selektiven Inhibitoren. Populäre, aber keineswegs die einzigen Beispiele für RhoA-aktivierende GEFs sind PDZ-RhoGEF, p190 RhoGEF, p115/LARG und p63/Trio [219, 237]. GEFs, welche an der RhoA-vermittelten Kontraktion glatter Muskulatur (insbesondere, aber nicht ausschließlich des kardiovaskulären Systems)

beteiligt sein könnten, sind PDZ-RhoGEF, LARG, Arhgef1 und p63RhoGEF [238-244]. Auch für die Rac-Aktivierung kommt eine breite Palette verschiedener GEFs in Frage [245, 246]. Die GEFs-vermittelte Rac-Aktivierung wurde bislang kaum im Zusammenhang mit der Regulation des glattmuskulären Tonus untersucht. Rac-aktivierende GEFs in glatten Muskelzellen umfassen jedoch – unabhängig von der Funktion (motorisch oder nicht-motorisch) – Kalirin, Vav2, Sos-1 und Trio [247-251].

5.3 Pharmakologische Eigenschaften von Secin H3 und ITX3

SecinH3 ist ein Inhibitor mit großer Spezifität für Cytohesine [204, 205, 252]. In biochemischen in vitro Assays liegt der IC50 im Bereich von 10 μM [252]. Der GDP-GTP-Austausch an GTPasen durch die Cytohesine 1-3 wird offenbar im Bereich von 2-5 μM gehemmt [205]. In der hier präsentierten Studie wurde SecinH3 in einer Konzentration von 30 μM eingesetzt. Die Vorgehensweise, bei Experimenten an intakten Geweben Konzentrationen zu wählen, die über den publizierten IC50-Werten aus biochemischen Assays liegen, ist durchaus naheliegend und akzeptiert [199, 200]. Tatsächlich dürfte die Zugänglichkeit der Zielstrukturen für Inhibitoren in intakten Gewebeverbänden eine andere sein, als in Zellkulturversuchen (kein Bindegewebe, Zellen sind stärker vereinzelt und von Zellkulturmedium umgeben) oder in biochemischen Assays (keine Zellmembranen oder andere Barrieren). Die hier verwendete Konzentration lag lediglich etwa 3-6fach höher als die ursprünglich publizierten IC50-Werte in biochemischen Assays. Dies legt nahe, dass die hier erzielten Ergebnisse durch eine spezifische Cytohesin-Hemmung zu Stande kamen. Secine wurden aktuell – also nahezu zeitgleich mit der hier präsentierten Studie – weiterentwickelt; dabei wurden offenbar SecinH3-Derivate entwickelt, welche eine verbesserte Affinität zu Cytohesinen aufweisen [252]. Gegenwärtig sind diese jedoch noch nicht erhältlich.

ITX3 wiederum ist ein GEF-Inhibitor, welcher in Zellkulturmodellen die Rac1- und RhoG-Aktivierung durch den GEF TrioN in transgenen Säugetier-Zellen hemmt, u. a. in Prostatakarzinomzellen [209]. Der IC50 für die RhoG-Aktivierung lag dabei bei 76 μM , der für die Rac1-Aktivierung etwas darüber, jedoch unter 100 μM [209]. In anderen Studien reichten 50 oder 100 μM des Inhibitors aus, um TrioN-vermittelte Effekte bzw. Rac1 zu hemmen [253, 254]. Von daher ist davon auszugehen, dass die hier eingesetzten

Konzentrationen von 200 bzw. 600 μM durchaus zu Effekten hätte führen sollen, wenn TrioN eine Rolle für die RhoA/Rac-Aktivierung oder für die glattmuskuläre Kontraktion in der Prostata spielen würde. Offenbar ist dies jedoch nicht der Fall. ITX3 wurde erstmalig 2009 publiziert, und die Erfahrungen bzw. die Anzahl bisheriger publizierter Studien mit diesem Inhibitor ist gering [209, 253-255].

5.4 Vorkommen von Cytohesinen

Nach bestem Wissen des Promovenden sind die hier gezeigten Untersuchungen die bisher einzig publizierten, welche eine Hemmung der Kontraktion glattmuskulärer Präparate durch SecinH3 zeigen. Bereits 1997 wurde allerdings gezeigt, dass Brefeldin A, ein Hemmstoff für GEFs mit sog. Sec7-Domänen, die glattmuskuläre Kontraktion im Gastrointestinaltrakt hemmt, wenngleich unabhängig von ARF6 [256]. Anders als der Cytohesin-spezifische Inhibitor SecinH3 handelt es sich bei Brefeldin A um ein Pilz-Toxin, welches auch als ADP-Ribosylierungsfaktor-Inhibitor und durch antivirale Wirkung bekannt wurde [257-261]. Vor kurzem konnte das Vorkommen von Cytohesinen im humanen Myometrium gezeigt werden, jedoch ohne dass Kontraktilitätsexperimente vorgenommen worden wären [262]. Ansonsten existieren offensichtlich bislang keine Untersuchungen, welche auf die Expression von Cytohesinen in glatten Muskelzellen eingehen. Aus der Prostata wiederum sind Cytohesine bisher ausschließlich aus malignen Zellen bzw. onkologischem Zusammenhang bekannt [263, 264]. Parallel zu den hier präsentierten, funktionalen Studien wurden im Labor des Promovenden Untersuchungen zur möglichen Expression der vier Cytohesin-Isoformen in der nicht-malignen Prostata vorgenommen, deren Ergebnisse jedoch noch ausstehen.

Allgemein wurden Cytohesine aus verschiedenen Zelltypen, im Zusammenhang mit verschiedenen Funktionen und Krankheiten, sowie aus Vertebraten und Invertebraten beschrieben. Dies sei hier nur exemplarisch wiedergegeben: Im Nervensystem sind Cytohesine an neuronalen Funktionen und an der Myelinisierung beteiligt [223, 265-269]. Cytohesine wurden wiederholt aus dem Immunsystem beschrieben [270]. Auf molekularer Ebene wurde mehrfach auf die Rolle für intrazelluläre Transportprozesse (*trafficking*) eingegangen [207, 271]. In onkologischen Zusammenhängen stand die Beteiligung von Cytohesinen bei der Proliferation und Migration im Vordergrund [270, 272]. Von speziellem

Interesse war zudem die Rolle von Cytohesinen bei der Insulin-Signalgebung, oder bei der Embryonalentwicklung von Fruchtfliegen (*Drosophila spec.*), was wiederum sehr plakativ die enorme Bandbreite der vermuteten Cytohesin-Funktionen widerspiegelt [273-276].

5.5 Klinische und translationale Aspekte

Die hier vorgestellten in vitro Studien legen nahe, dass SecinH3 in vivo zu urodynamischen Effekten führen könnte, also zu Verbesserungen von Harnstrahl und Symptomen bei einer BOO. Dies könnte nun in nachfolgenden, ebenfalls präklinischen Studien zunächst in Tiermodellen untersucht werden. Solche Studien erfolgen meist an Ratten mit einer experimentell erzeugten BOO, welche durch eine partielle urethrale Obstruktion (PUO) herbeigeführt wird [277-279]. Seltener, da aufwändiger, wird auf Hunde oder gar Primaten zurückgegriffen, bei denen die Prostata im Gegensatz zu Ratten über eine Kapsel verfügt, bzw. bei Primaten auch ringförmig um die Harnröhre geschlossen ist [280-282]. Solche Untersuchungen scheinen denkbar, da SecinH3 durchaus in vivo applizierbar ist. Zumindest in Nagetieren ist eine Behandlung mindestens über mehrere Tage möglich [205, 220, 224, 228, 230].

Bei Patienten mit einer BOO stehen LUTS sehr häufig im Zusammenhang mit einer BPH, wobei zum einen der glattemuskuläre Tonus der Prostata, und zum anderen die Vergrößerung der Prostata zur urethralen Obstruktion beitragen und zu Symptomen führen [42, 71, 119]. Mittel der Wahl sind bei der medikamentösen Therapie α_1 -Blocker, welche durch eine Relaxation der glatten Prostatamuskulatur zu einer Verbesserung von Blasenentleerung, Harnstrahl, und weiteren Symptomen führen [42, 71, 119]. Obwohl allein für den α_1 -Blocker Tamsulosin jährlich weltweit rund 2,5 Milliarden USD ausgegeben wird und dieses Medikament sicherlich die Situation zahlreicher Patienten verbessert, bleibt die Situation oft und im Allgemeinen unzureichend [5, 71]. Tatsächlich stehen der enormen Popularität der α_1 -Blocker erstaunliche Limits hinsichtlich ihrer Effektivität gegenüber [71, 203]. Klinische Studien zeigten, dass durch α_1 -Blocker maximal eine Senkung des IPSS um 30-50 % bzw. eine Verbesserung des Harnstrahls um 15-40 % möglich ist [71, 80, 92, 119, 203]. Allerdings kommt es alleine durch Placebo-Medikamente zu einer Senkung des IPSS um 15-34 % und zu einer Verbesserung des Harnstrahls um bis zu 27 % [71, 80, 92, 119, 203]. Dementsprechend

sind 69 % der Patienten mit der Wirkung von α_1 -Blockern unzufrieden. Selbst bei der Kombinationstherapie mit 5-ARIs zeigen sich noch 36-45 % enttäuscht [283, 284]. Mangelnde Effektivität ist einer der Hauptgründe (ca. 53 %), um von einem α_1 -Blocker zu anderen Medikamenten zu wechseln [285]. Die Zahl der sog. "non-responder" ist hoch: offensichtlich verbessert sich der IPSS bei 30-35 % der Patienten durch α_1 -Blocker lediglich um weniger als 25 % [73, 286]. Folglich sind die Abbruchraten erschreckend hoch: 1 Jahr nach der Erstverschreibung setzten lediglich 35 % der Patienten die Einnahme fort [287]. Dies führt zu Krankenhausaufenthalten und zu einer hohen Anzahl von operativen Eingriffen (z. B. TURP) [287].

Sowohl aus Sicht der Patienten als auch der behandelnden Ärzte ist diese Situation nicht zufriedenstellend. Wünschenswert sind daher neue medikamentöse Optionen mit höherer Effektivität als α_1 -Blocker bzw. bisherige Therapien. Wie oben dargestellt, scheint es naheliegend, dass SecinH3 in vivo zu urodynamischen Effekten führen könnte. Zwei Gründe sprechen dafür, dass SecinH3 bzw. eine Kombination mit α_1 -Blockern die Effekte einer α_1 -Blocker-Monotherapie sogar übertreffen könnten: 1) SecinH3 hemmt nicht nur die adrenerge, sondern auch die nicht-adrenerge Kontraktion; 2) die neurogene Kontraktion wurde durch die Kombination von SecinH3 mit Tamsulosin stärker gehemmt als durch Tamsulosin alleine. Tatsächlich wird davon ausgegangen, dass nicht-adrenerge Mediatoren (Endotheline, Thromboxan A2) in vivo parallel zur neurogenen, α_1 -adrenergen Kontraktion zum glattmuskulären Tonus der hyperplastischen Prostata beitragen [71, 168, 203, 211]. Diese Komponente kann durch α_1 -Blocker jedoch nicht erreicht werden, was deren eingeschränkte Effektivität erklären könnte. Zukünftige Therapien mit höherer Effektivität als α_1 -Blocker müssen daher nicht-adrenerge Mediatoren mitberücksichtigen.

6 Zusammenfassung

Die Kontraktion der glatten Prostatamuskulatur spielt sowohl bei der Entstehung als auch bei der Therapie von Symptomen des unteren Harntraktes eine entscheidende Rolle. Auf molekularer Ebene wird die glattemuskuläre Kontraktion der Prostata durch die kleinen, monomeren GTPasen RhoA und Rac vermittelt, bzw. begünstigt. Solche GTPasen werden durch GTP-Austauschfaktoren (guanosine exchange factors, GEFs) aktiviert. In der vorliegenden Arbeit wurden die Effekte von neuen GEF-Inhibitoren auf die Kontraktion von humanem Prostatagewebe untersucht. Zum einen konnte hierdurch erstmalig die mögliche Bedeutung von GEFs für die Kontraktion der glatten Prostatamuskulatur beleuchtet werden. Zum anderen zeigen die derzeitig verfügbaren Optionen zur Therapie von Miktionsbeschwerden (welche hauptsächlich mit α_1 -Blockern erfolgt) eine unzureichende Effektivität, so dass neue Strategien zur Hemmung der Prostatakontraktion aus experimentellen Modellen als mögliche Grundlage für zukünftige Therapien von großem Interesse sind.

In der vorgestellten Arbeit wurden die Effekte von SecinH3, einem Inhibitor für GEFs der Cytohesin-Familie, und von ITX3, einem Inhibitor des GEF Trion, auf die Kontraktion von humanem Prostatagewebe untersucht. Verwendet wurden hierzu Proben aus der periurethralen Zone, welche im Rahmen von radikalen Prostatektomien gewonnen wurden. In Organbädern wurden dann die Effekte der Inhibitoren auf Kontraktionen untersucht, welche durch Zugabe von verschiedenen Agonisten oder durch elektrische Feldstimulation (EFS) ausgelöst wurden. Letztere führt durch Auslösung von Aktionspotentialen und Ausschüttung endogener Neurotransmitter zur Kontraktion.

Im Organbad führen Noradrenalin, der α_1 -Adrenozeptor-Agonist Phenylephrin, das Thromboxan A2-Analogon U46619, sowie die Endotheline 1-3 zu Konzentrations-abhängigen Kontraktionen von humanen Prostatageweben, während EFS Frequenz-abhängige Kontraktionen auslöste. SecinH3 (30 μM) führte zu signifikanten Hemmungen der Noradrenalin-, Phenylephrin-, U46619-, Endothelin-1-, Endothelin-3- und EFS-induzierten Kontraktionen. Diese signifikanten Hemmungen ($p < 0,05$) wurden bei 3-100 μM Noradrenalin, 1-30 μM Phenylephrin, 10 und 100 nM U46619, 0,1, 1 und 3 μM Endothelin-1, sowie 0,3-3 μM Endothelin-3 beobachtet. Die EFS-induzierte Kontraktion wurde bei 2-8 Hz

signifikant ($p < 0,05$) durch Secin H3 gehemmt. Die Hemmung der EFS-induzierten Kontraktion durch SecinH3 betrug etwa 50 %, und ähnelte damit der Hemmung der EFS-induzierten Kontraktion durch den α_1 -Blocker Tamsulosin (300 nM), welche sich ebenfalls um 50 % bewegte. In weiteren Experimenten wurden EFS-induzierte Kontraktionen nach kombinierter, gleichzeitiger Zugabe von SecinH3 und Tamsulosin, bzw. nach Zugabe von Tamsulosin alleine verglichen. Die Kombination von Secin H3 mit Tamsulosin führte dabei zu signifikant stärkeren Hemmungen der EFS-induzierten Kontraktion als Tamsulosin alleine ($p < 0,05$ bei 4-32 Hz für SecinH3 + Tamsulosin gegen Tamsulosin alleine). Die Endothelin-2-induzierte Kontraktion wurde durch SecinH3 nicht gehemmt. ITX3 blieb in Konzentrationen von 200 μM und 600 μM ohne Effekt auf die Noradrenalin-induzierte Kontraktion.

Die hier präsentierten Ergebnisse legen nahe, dass SecinH3-sensitive GEFs eine bedeutende Rolle für die glattmuskuläre Kontraktion in der humanen Prostata spielen. SecinH3 hemmt die neurogene Kontraktion in der humanen Prostata mit ähnlicher Effektivität wie die weitverbreiteten α_1 -Blocker. Die Kombination aus SecinH3 und Tamsulosin zeigt bei der Hemmung der neurogenen Kontraktion sogar eine signifikant höhere Effektivität als Tamsulosin alleine. Dies könnte die Grundlage für neue therapeutische Optionen zur Behandlung von Symptomen des unteren Harntraktes bilden, mit verbesserter Effektivität als die aktuell verfügbaren Optionen.

7 Literaturverzeichnis

1. Schulte, E., *Männliches Genitale*, in *Anatomie, Duale Reihe*. 2010, Thieme: Stuttgart. p. 749ff.
2. Haynes, J.M. and S. Ventura, *Current models of human prostate contractility*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2005. **32**(10): p. 797-804.
3. Urologie, D.G.f., *Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms*. 2014.
4. (DGU), D.G.f.U.e.V., *S2e Leitlinie Therapie des Benigen Prostatasyndroms*. 2014, AWMF.
5. Ventura, S., et al., *Novel drug targets for the pharmacotherapy of benign prostatic hyperplasia (BPH)*. Br J Pharmacol, 2011. **163**(5): p. 891-907.
6. Pradidarcheep, W., et al., *Anatomy and histology of the lower urinary tract*. Handb Exp Pharmacol, 2011(202): p. 117-48.
7. Bommas-Ebert, U.e.a., *Kuzrlehrbuch Anatomie und Embryologie*. 2011: p. 71f.
8. Frohneberg D. , W.D., *Embryologie - Entwicklung des Urogenitalsystems*, in *Urologie*, G.J. Hautmann R. , Editor. 2014 Springer-Lehrbuch. p. 6.
9. Schünke M. , S.E., Schumacher U., *Organe des Genitallsystems und ihre Leitungsbahnen*, in *Prometheus Innere Organe*. 2009, Thieme: Stuttgart.
10. R., H., *Urologie*. 2010, Heidelberg: Springer.
11. Zwergel, U.S., *Benigne Prostatahyperplasie*. 1999, Berlin: Springer.
12. Paulsen F., W.J., *Sobotta Atlas der Anatomie des Menschen , Innere Organe*. 2010: Elsevier.
13. R., L.-R., *Männliche Geschlechtsorgane*, in *Taschenlehrbuch Histologie* 2009, Thieme: Stuttgart , New York.
14. Thomas C., A.G., Ramaswamy A., *Männliches Genitale*, in *Histologie*. 2006, Lehmanns Media: Marburg.
15. Shaikh Ibrahim, Z., et al., *The peripheral zone of the prostate is more prone to tumor development than the transitional zone: is the ETS family the key?* Mol Med Rep, 2012. **5**(2): p. 313-6.
16. Pape H.-C. , K.A., Silbernagl S., *Sexualfunktion, Schwangerschaft und Geburt*, in *Physiologie*. 2014, Thieme: Würzburg.
17. Hautmann R. , H.H., *Urologie*. 2006, Heidelberg: Springer.
18. Jürgen Sökeland, H.S., Herbert Rübben, *Urologie Verstehen-Lernen-Anwenden*. 2004, Stuttgart: Thieme.
19. C., P., *Sexualentwicklung und Reproduktionsphysiologie*, in *Duale Reihe Physiologie*, B. J., Editor. 2012, Thieme: Stuttgart.
20. Speckmann, H., Köhling, *Reproduktion*, in *Physiologie*. 2013, Elsevier: München.
21. Böcker W., D.H., Heitz P.H., *Pathologie*. 2008, München: Elsevier Urban & Fischer.
22. Riede, U.N.e.a., *Männliches Genitalsystem*, in *Allgemeine und spezielle Pathologie*. 2004, Thieme: Stuttgart.
23. Wagenlehner, F.M., et al., *Prostatitis and male pelvic pain syndrome: diagnosis and treatment*. Dtsch Arztebl Int, 2009. **106**(11): p. 175-83.
24. Wagenlehner, F.M., et al., *National Institutes of Health Chronic Prostatitis Symptom Index (NIH-CPSI) symptom evaluation in multinational cohorts of patients with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome*. Eur Urol, 2013. **63**(5): p. 953-9.
25. Robert-Koch-Institut, *Krebs in Deutschland 2009/10*. 2013, Berlin: Robert-Koch-Institut.
26. Attard, G., et al., *Prostate cancer*. Lancet, 2015.

27. Huggins, C. and C.V. Hodges, *Studies on prostatic cancer. I. The effect of castration, of estrogen and androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate*. CA Cancer J Clin, 1972. **22**(4): p. 232-40.
28. Huggins, C. and C.V. Hodges, *Studies on prostatic cancer. I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. 1941*. J Urol, 2002. **167**(2 Pt 2): p. 948-51; discussion 952.
29. J.M. Wolff , H.P.S., *Testosteron im Management des metastasierten Prostatakarzinoms*. Urologe 2015, 2015. **Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015**.
30. Cooper, C.S., et al., *Effect of exogenous testosterone on prostate volume, serum and semen prostate specific antigen levels in healthy young men*. J Urol, 1998. **159**(2): p. 441-3.
31. Isbarn, H., et al., *Testosterone and prostate cancer: revisiting old paradigms*. Eur Urol, 2009. **56**(1): p. 48-56.
32. Graefen, M., *Prostatakarzinom*, in *Urologie*, H. R., Editor. 2010, Springer: Heidelberg.
33. Heidenreich, A., et al., *EAU guidelines on prostate cancer*. Eur Urol, 2008. **53**(1): p. 68-80.
34. Bill-Axelson, A., et al., *Radical prostatectomy versus watchful waiting in localized prostate cancer: the Scandinavian prostate cancer group-4 randomized trial*. J Natl Cancer Inst, 2008. **100**(16): p. 1144-54.
35. Bach, T., *Benignes Prostatasyndrom*, in *Urologie*, G.J. Hautmann R. , Editor. 2014, Springer-Verlag: Berlin Heidelberg.
36. Berges, R., *[Epidemiology of benign prostatic syndrome. Associated risks and management data in German men over age 50]*. Urologe A, 2008. **47**(2): p. 141-8.
37. Madersbacher, S., M.C. Michel, and K. Dreikorn, *[Contemporary medical management of the benign prostatic syndrome]*. Urologe A, 2008. **47**(2): p. 166-71.
38. Berges, R.R., et al., *Male lower urinary tract symptoms and related health care seeking in Germany*. Eur Urol, 2001. **39**(6): p. 682-7.
39. Jonas, U., et al., *[Benign prostate hyperplasia]*. Urologe A, 2006. **45 Suppl 4**: p. 134-44.
40. Chapple, C., *Overview on the lower urinary tract*. Handb Exp Pharmacol, 2011(202): p. 1-14.
41. Chapple, C.R., et al., *Lower urinary tract symptoms revisited: a broader clinical perspective*. Eur Urol, 2008. **54**(3): p. 563-9.
42. Oelke, M., M.A. Kuczyk, and T.R. Herrmann, *[Pharmacological treatment of benign prostatic hyperplasia]*. Urologe A, 2009. **48**(11): p. 1365-75; quiz 1376-7.
43. Hald, T., *Urodynamics in benign prostatic hyperplasia: a survey*. Prostate Suppl, 1989. **2**: p. 69-77.
44. Berry, S.J., et al., *The development of human benign prostatic hyperplasia with age*. J Urol, 1984. **132**(3): p. 474-9.
45. Barry G. Timms, L.E.H., *Prostate development and growth in benign prostatic hyperplasia*. Differentiation, 2011. **82**(Special issue on Benign Prostatic Hyperplasia): p. 173-183.
46. Nicholson, T.M. and W.A. Ricke, *Androgens and estrogens in benign prostatic hyperplasia: past, present and future*. Differentiation, 2011. **82**(4-5): p. 184-99.
47. S., M., *ZNS*, in *Duale Reihe Anatomie*, A. G., Editor. 2010, Thieme: Stuttgart.
48. Sampson, N., et al., *The ageing male reproductive tract*. J Pathol, 2007. **211**(2): p. 206-18.
49. Pollan, M.C., H.A. Benghuzzi, and M. Tucci, *Growth factor expression in early stages of benign prostatic hyperplasia upon exposure to sustained delivery of androgens*. Biomed Sci Instrum, 2003. **39**: p. 329-34.

50. Sanda, M.G., et al., *Genetic susceptibility of benign prostatic hyperplasia*. J Urol, 1994. **152**(1): p. 115-9.
51. Pearson, J.D., et al., *Familial aggregation of bothersome benign prostatic hyperplasia symptoms*. Urology, 2003. **61**(4): p. 781-5.
52. Sanda, M.G., et al., *Clinical and biological characteristics of familial benign prostatic hyperplasia*. J Urol, 1997. **157**(3): p. 876-9.
53. De Nunzio, C., et al., *The correlation between metabolic syndrome and prostatic diseases*. Eur Urol, 2012. **61**(3): p. 560-70.
54. Patel, N.D. and J.K. Parsons, *Epidemiology and etiology of benign prostatic hyperplasia and bladder outlet obstruction*. Indian J Urol, 2014. **30**(2): p. 170-6.
55. Abrams, P., *New words for old: lower urinary tract symptoms for "prostatism"*. BMJ, 1994. **308**(6934): p. 929-30.
56. Bschiepfer, T., F. Wagenlehner, and W. Weidner, *[Etiology and pathogenesis of overactive bladder]*. Urologe A, 2011. **50**(4): p. 477-80.
57. Irwin, D.E., et al., *Population-based survey of urinary incontinence, overactive bladder, and other lower urinary tract symptoms in five countries: results of the EPIC study*. Eur Urol, 2006. **50**(6): p. 1306-14; discussion 1314-5.
58. Milsom, I.A.P.e.a., *How widespread are the symptoms of an overactive bladder and how are they managed? A population-based prevalence study*. BJU Int, 2001. **87**(9): p. 760-766.
59. Abrams, P. and K.E. Andersson, *Muscarinic receptor antagonists for overactive bladder*. BJU Int, 2007. **100**(5): p. 987-1006.
60. Abrams, P., et al., *Muscarinic receptors: their distribution and function in body systems, and the implications for treating overactive bladder*. Br J Pharmacol, 2006. **148**(5): p. 565-78.
61. Athanasopoulos, A., et al., *The role of antimuscarinics in the management of men with symptoms of overactive bladder associated with concomitant bladder outlet obstruction: an update*. Eur Urol, 2011. **60**(1): p. 94-105.
62. Roehrborn, C.G. and D.A. Schwinn, *Alpha1-adrenergic receptors and their inhibitors in lower urinary tract symptoms and benign prostatic hyperplasia*. J Urol, 2004. **171**(3): p. 1029-35.
63. Michel, M.C., *The forefront for novel therapeutic agents based on the pathophysiology of lower urinary tract dysfunction: alpha-blockers in the treatment of male voiding dysfunction - how do they work and why do they differ in tolerability?* J Pharmacol Sci, 2010. **112**(2): p. 151-7.
64. Eglen, R.M., A. Choppin, and N. Watson, *Therapeutic opportunities from muscarinic receptor research*. Trends Pharmacol Sci, 2001. **22**(8): p. 409-14.
65. Kanda, M., et al., *Effects of ONO-2235, an aldose reductase inhibitor, on muscarinic receptors and contractile response of the urinary bladder in rats with streptozotocin-induced diabetes*. Jpn J Pharmacol, 1997. **73**(3): p. 221-8.
66. Andersson, K.E. and A. Schroder, *[Changes in muscarinic receptors of the aging bladder]*. Urologe A, 2004. **43**(5): p. 552-6.
67. Fleischman, M., et al., *Signal transduction underlying carbachol-induced contraction of rat urinary bladder. II. Protein kinases*. J Pharmacol Exp Ther, 2004. **308**(1): p. 54-8.
68. Schneider, T., P. Hein, and M.C. Michel, *Signal transduction underlying carbachol-induced contraction of rat urinary bladder. I. Phospholipases and Ca²⁺ sources*. J Pharmacol Exp Ther, 2004. **308**(1): p. 47-53.
69. Speakman, M.J., et al., *Bladder outflow obstruction--a cause of denervation supersensitivity*. J Urol, 1987. **138**(6): p. 1461-6.

70. Sibley, G.N., *The physiological response of the detrusor muscle to experimental bladder outflow obstruction in the pig*. Br J Urol, 1987. **60**(4): p. 332-6.
71. Hennenberg, M., C.G. Stief, and C. Gratzke, *Prostatic alpha1-adrenoceptors: new concepts of function, regulation, and intracellular signaling*. NeuroUrol Urodyn, 2014. **33**(7): p. 1074-85.
72. Andersson, K.E., H. Lepor, and M.G. Wyllie, *Prostatic alpha 1-adrenoceptors and uroselectivity*. Prostate, 1997. **30**(3): p. 202-15.
73. Chapple, C.R., et al., *Silodosin therapy for lower urinary tract symptoms in men with suspected benign prostatic hyperplasia: results of an international, randomized, double-blind, placebo- and active-controlled clinical trial performed in Europe*. Eur Urol, 2011. **59**(3): p. 342-52.
74. Peters, T.J., et al., *The International Continence Society "Benign Prostatic Hyperplasia" Study: the bothersomeness of urinary symptoms*. J Urol, 1997. **157**(3): p. 885-9.
75. Bankl, H., *Spezielle Pathologie 2*, in *Arbeitsbuch Pathologie*. 2000, Facultas: Wien.
76. Abrams, P.F., R. Torrens, M., *Urodynamik für Klinik und Praxis*. 1987, Berlin Heidelberg New York: Springer.
77. Gratzke, C., et al., *[Surgical treatment of male lower urinary tract symptoms (LUTS)]*. Urologe A, 2012. **51**(9): p. 1297-306; quiz 1307.
78. Berges, R., *[Treatment of LUTS in BPS. When and when not to administer pills?]*. Urologe A, 2009. **48**(3): p. 257-63.
79. Hofner, K. and M. Oelke, *[Medical combination therapy in LUTS suggestive of BPH]*. Urologe A, 2009. **48**(3): p. 250-6.
80. Madersbacher, S., et al., *The long-term outcome of medical therapy for BPH*. Eur Urol, 2007. **51**(6): p. 1522-33.
81. Ball, A.J., R.C. Feneley, and P.H. Abrams, *The natural history of untreated "prostatism"*. Br J Urol, 1981. **53**(6): p. 613-6.
82. Jacobsen, S.J., et al., *Natural history of prostatism: risk factors for acute urinary retention*. J Urol, 1997. **158**(2): p. 481-7.
83. Flanigan, R.C., et al., *5-year outcome of surgical resection and watchful waiting for men with moderately symptomatic benign prostatic hyperplasia: a Department of Veterans Affairs cooperative study*. J Urol, 1998. **160**(1): p. 12-6; discussion 16-7.
84. Wasson, J.H., et al., *A comparison of transurethral surgery with watchful waiting for moderate symptoms of benign prostatic hyperplasia. The Veterans Affairs Cooperative Study Group on Transurethral Resection of the Prostate*. N Engl J Med, 1995. **332**(2): p. 75-9.
85. Chrubasik, J.E., et al., *A comprehensive review on the stinging nettle effect and efficacy profiles. Part II: urticae radix*. Phytomedicine, 2007. **14**(7-8): p. 568-79.
86. McNicholas, T. and R. Kirby, *Benign prostatic hyperplasia and male lower urinary tract symptoms (LUTS)*. BMJ Clin Evid, 2011. **2011**.
87. Avins, A.L., et al., *A detailed safety assessment of a saw palmetto extract*. Complement Ther Med, 2008. **16**(3): p. 147-54.
88. Cornu, J.N., et al., *A widespread population study of actual medical management of lower urinary tract symptoms related to benign prostatic hyperplasia across Europe and beyond official clinical guidelines*. Eur Urol, 2010. **58**(3): p. 450-6.
89. Michel, M.C., Dreikorn K, Madersbacher S, Muschter R, *Konservative Behandlung des benignen Prostatasyndroms*. Deutsches Ärzteblatt 2007. **104**(A 2354-2358).
90. Michel, M.C. and W. Vrydag, *Alpha1-, alpha2- and beta-adrenoceptors in the urinary bladder, urethra and prostate*. Br J Pharmacol, 2006. **147** Suppl 2: p. S88-119.

91. Barendrecht, M.M., et al., *Do alpha1-adrenoceptor antagonists improve lower urinary tract symptoms by reducing bladder outlet resistance?* Neurourol Urodyn, 2008. **27**(3): p. 226-30.
92. Kortmann, B.B., et al., *Urodynamic effects of alpha-adrenoceptor blockers: a review of clinical trials.* Urology, 2003. **62**(1): p. 1-9.
93. Keast, J.R., M. Kawatani, and W.C. De Groat, *Sympathetic modulation of cholinergic transmission in cat vesical ganglia is mediated by alpha 1- and alpha 2-adrenoceptors.* Am J Physiol, 1990. **258**(1 Pt 2): p. R44-50.
94. Malloy, B.J., et al., *Alpha1-adrenergic receptor subtypes in human detrusor.* J Urol, 1998. **160**(3 Pt 1): p. 937-43.
95. Michel, M.C., et al., *Comparison of tamsulosin efficacy in subgroups of patients with lower urinary tract symptoms.* Prostate Cancer Prostatic Dis, 1998. **1**(6): p. 332-335.
96. Djavan, B., et al., *State of the art on the efficacy and tolerability of alpha1-adrenoceptor antagonists in patients with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia.* Urology, 2004. **64**(6): p. 1081-8.
97. McConnell, J.D., et al., *The long-term effect of doxazosin, finasteride, and combination therapy on the clinical progression of benign prostatic hyperplasia.* N Engl J Med, 2003. **349**(25): p. 2387-98.
98. Roehrborn, C.G., et al., *The effects of combination therapy with dutasteride and tamsulosin on clinical outcomes in men with symptomatic benign prostatic hyperplasia: 4-year results from the CombAT study.* Eur Urol, 2010. **57**(1): p. 123-31.
99. Abrams, P., et al., *A dose-ranging study of the efficacy and safety of tamsulosin, the first prostate-selective alpha 1A-adrenoceptor antagonist, in patients with benign prostatic obstruction (symptomatic benign prostatic hyperplasia).* Br J Urol, 1997. **80**(4): p. 587-96.
100. Athanasopoulos, A., et al., *Combination treatment with an alpha-blocker plus an anticholinergic for bladder outlet obstruction: a prospective, randomized, controlled study.* J Urol, 2003. **169**(6): p. 2253-6.
101. Chapple, C.R., et al., *A three month double-blind study of doxazosin as treatment for benign prostatic bladder outlet obstruction.* Br J Urol, 1994. **74**(1): p. 50-6.
102. de Nunzio, C., et al., *The evolution of detrusor overactivity after watchful waiting, medical therapy and surgery in patients with bladder outlet obstruction.* J Urol, 2003. **169**(2): p. 535-9.
103. Gerber, G.S., et al., *Doxazosin in men with lower urinary tract symptoms: urodynamic evaluation at 15 months.* Urology, 1997. **50**(2): p. 229-33.
104. Gerber, G.S., et al., *An observational urodynamic evaluation of men with lower urinary tract symptoms treated with doxazosin.* Urology, 1996. **47**(6): p. 840-4.
105. Martorana, G., et al., *Effects of short-term treatment with the alpha 1-blocker alfuzosin on urodynamic pressure/flow parameters in patients with benign prostatic hyperplasia.* Eur Urol, 1997. **32**(1): p. 47-53.
106. Nishino, Y., et al., *Comparison of two alpha1-adrenoceptor antagonists, naftopidil and tamsulosin hydrochloride, in the treatment of lower urinary tract symptoms with benign prostatic hyperplasia: a randomized crossover study.* BJU Int, 2006. **97**(4): p. 747-51, discussion 751.
107. Ozbey, I., et al., *Effects of doxazosin in men with benign prostatic hyperplasia: urodynamic assessment.* Int Urol Nephrol, 1999. **31**(4): p. 471-9.
108. Sivkov, A.V., et al., *[Urodynamic criteria of predicting efficacy of therapy with alpha1-adrenergic blockaders in patients with benign prostatic hyperplasia].* Urologiia, 2002(5 Suppl): p. 13-22.
109. Witjes, W.P., et al., *Urodynamic and clinical effects of terazosin therapy in patients with symptomatic benign prostatic hyperplasia.* J Urol, 1996. **155**(4): p. 1317-23.

110. Witjes, W.P., et al., *Urodynamic and clinical effects of noninvasive and minimally invasive treatments in elderly men with lower urinary tract symptoms stratified according to the grade of obstruction*. Urology, 1997. **50**(1): p. 55-61.
111. Yamanishi, T., et al., *Urodynamic effects of silodosin, a new alpha 1A-adrenoceptor selective antagonist, for the treatment of benign prostatic hyperplasia*. Neurourol Urodyn, 2010. **29**(4): p. 558-62.
112. Yamanishi, T., et al., *Single-blind, randomized controlled study of the clinical and urodynamic effects of an alpha-blocker (naftopidil) and phytotherapy (eviprostat) in the treatment of benign prostatic hyperplasia*. Int J Urol, 2004. **11**(7): p. 501-9.
113. de Mey, C., *Cardiovascular effects of alpha-blockers for the treatment of symptomatic BPH*. Eur Urol, 1998. **34 Suppl 2**: p. 18-28; discussion 47.
114. Marks, L.S., et al., *Silodosin in the treatment of the signs and symptoms of benign prostatic hyperplasia: a 9-month, open-label extension study*. Urology, 2009. **74**(6): p. 1318-22.
115. Chang, D.F. and J.R. Campbell, *Intraoperative floppy iris syndrome associated with tamsulosin*. J Cataract Refract Surg, 2005. **31**(4): p. 664-73.
116. Michel, M.C., N. Pfeiffer, and K. Hofner, *[What does "intraoperative floppy iris" syndrome mean for urologists?]*. Urologe A, 2006. **45**(12): p. 1547-8.
117. Andriole, G., et al., *Dihydrotestosterone and the prostate: the scientific rationale for 5alpha-reductase inhibitors in the treatment of benign prostatic hyperplasia*. J Urol, 2004. **172**(4 Pt 1): p. 1399-403.
118. Naslund, M.J. and M. Miner, *A review of the clinical efficacy and safety of 5alpha-reductase inhibitors for the enlarged prostate*. Clin Ther, 2007. **29**(1): p. 17-25.
119. Oelke, M., et al., *EAU guidelines on the treatment and follow-up of non-neurogenic male lower urinary tract symptoms including benign prostatic obstruction*. Eur Urol, 2013. **64**(1): p. 118-40.
120. Tacklind, J., et al., *Finasteride for benign prostatic hyperplasia*. Cochrane Database Syst Rev, 2010(10): p. CD006015.
121. Roehrborn, C.G., et al., *Clinical outcomes after combined therapy with dutasteride plus tamsulosin or either monotherapy in men with benign prostatic hyperplasia (BPH) by baseline characteristics: 4-year results from the randomized, double-blind Combination of Avodart and Tamsulosin (CombAT) trial*. BJU Int, 2011. **107**(6): p. 946-54.
122. Chess-Williams, R., et al., *The minor population of M3-receptors mediate contraction of human detrusor muscle in vitro*. J Auton Pharmacol, 2001. **21**(5-6): p. 243-8.
123. Matsui, M., et al., *Multiple functional defects in peripheral autonomic organs in mice lacking muscarinic acetylcholine receptor gene for the M3 subtype*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(17): p. 9579-84.
124. Braverman, A.S., L.R. Doumanian, and M.R. Ruggieri, Sr., *M2 and M3 muscarinic receptor activation of urinary bladder contractile signal transduction. II. Denervated rat bladder*. J Pharmacol Exp Ther, 2006. **316**(2): p. 875-80.
125. Drake, M.J., et al., *Localized contractions in the normal human bladder and in urinary urgency*. BJU Int, 2005. **95**(7): p. 1002-5.
126. Kaplan, S.A., et al., *Antimuscarinics for treatment of storage lower urinary tract symptoms in men: a systematic review*. Int J Clin Pract, 2011. **65**(4): p. 487-507.
127. Kaplan, S.A., K. Walmsley, and A.E. Te, *Tolterodine extended release attenuates lower urinary tract symptoms in men with benign prostatic hyperplasia*. J Urol, 2005. **174**(6): p. 2273-5 discussion 2275-6.
128. NICE., *National Institute for Health and Clinical Excellence. The management of lower urinary tract symptoms in men & Appendices A-H*. 2010.

129. Roehrborn, C.G., et al., *Effects of serum PSA on efficacy of tolterodine extended release with or without tamsulosin in men with LUTS, including OAB*. Urology, 2008. **72**(5): p. 1061-7; discussion 1067.
130. Kedia, G.T., et al., *The nitric oxide pathway in the human prostate: clinical implications in men with lower urinary tract symptoms*. World J Urol, 2008. **26**(6): p. 603-9.
131. McVary, K.T., et al., *Sildenafil citrate improves erectile function and urinary symptoms in men with erectile dysfunction and lower urinary tract symptoms associated with benign prostatic hyperplasia: a randomized, double-blind trial*. J Urol, 2007. **177**(3): p. 1071-7.
132. Dmochowski, R., et al., *Urodynamic effects of once daily tadalafil in men with lower urinary tract symptoms secondary to clinical benign prostatic hyperplasia: a randomized, placebo controlled 12-week clinical trial*. J Urol, 2010. **183**(3): p. 1092-7.
133. Roehrborn, C.G., et al., *Tadalafil administered once daily for lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia: a dose finding study*. J Urol, 2008. **180**(4): p. 1228-34.
134. Gacci, M., et al., *A systematic review and meta-analysis on the use of phosphodiesterase 5 inhibitors alone or in combination with alpha-blockers for lower urinary tract symptoms due to benign prostatic hyperplasia*. Eur Urol, 2012. **61**(5): p. 994-1003.
135. Debruyne, F.M., et al., *Sustained-release alfuzosin, finasteride and the combination of both in the treatment of benign prostatic hyperplasia*. European ALFIN Study Group. Eur Urol, 1998. **34**(3): p. 169-75.
136. Kirby, R.S., et al., *Efficacy and tolerability of doxazosin and finasteride, alone or in combination, in treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia: the Prospective European Doxazosin and Combination Therapy (PREDICT) trial*. Urology, 2003. **61**(1): p. 119-26.
137. Lepor, H., et al., *The efficacy of terazosin, finasteride, or both in benign prostatic hyperplasia*. Veterans Affairs Cooperative Studies Benign Prostatic Hyperplasia Study Group. N Engl J Med, 1996. **335**(8): p. 533-9.
138. Michel, M.C., *beta-Adrenergic Receptor Subtypes in the Urinary Tract*. Handb Exp Pharmacol, 2011(202): p. 307-18.
139. Chapple, C.R., et al., *A proof-of-concept study: mirabegron, a new therapy for overactive bladder*. Neurourol Urodyn, 2013. **32**(8): p. 1116-22.
140. Chapple, C.R., et al., *Randomized double-blind, active-controlled phase 3 study to assess 12-month safety and efficacy of mirabegron, a beta(3)-adrenoceptor agonist, in overactive bladder*. Eur Urol, 2013. **63**(2): p. 296-305.
141. Mangera, A., et al., *Contemporary management of lower urinary tract disease with botulinum toxin A: a systematic review of botox (onabotulinumtoxinA) and dysport (abobotulinumtoxinA)*. Eur Urol, 2011. **60**(4): p. 784-95.
142. Leippold, T., A. Reitz, and B. Schurch, *Botulinum toxin as a new therapy option for voiding disorders: current state of the art*. Eur Urol, 2003. **44**(2): p. 165-74.
143. Yokoyama, T., et al., *Botulinum toxin type A for the treatment of lower urinary tract disorders*. Int J Urol, 2012. **19**(3): p. 202-15.
144. Gorgal, T., et al., *Expression of apoptosis-regulating genes in the rat prostate following botulinum toxin type A injection*. BMC Urol, 2012. **12**: p. 1.
145. Madersbacher, S. and M. Marberger, *Is transurethral resection of the prostate still justified?* BJU Int, 1999. **83**(3): p. 227-37.

146. Saporta, L., et al., *Objective and subjective comparison of transurethral resection, transurethral incision and balloon dilatation of the prostate. A prospective study.* Eur Urol, 1996. **29**(4): p. 439-45.
147. Westenberg, A., et al., *Holmium laser resection of the prostate versus transurethral resection of the prostate: results of a randomized trial with 4-year minimum long-term followup.* J Urol, 2004. **172**(2): p. 616-9.
148. Abrams, P.H., et al., *The results of prostatectomy: a symptomatic and urodynamic analysis of 152 patients.* J Urol, 1979. **121**(5): p. 640-2.
149. Ahmed, M., et al., *Transurethral microwave thermotherapy (Prostatron version 2.5) compared with transurethral resection of the prostate for the treatment of benign prostatic hyperplasia: a randomized, controlled, parallel study.* Br J Urol, 1997. **79**(2): p. 181-5.
150. Edwards, L. and C. Powell, *An objective comparison of transurethral resection and bladder neck incision in the treatment of prostatic hypertrophy.* J Urol, 1982. **128**(2): p. 325-7.
151. Ghalayini, I.F., M.A. Al-Ghazo, and R.S. Pickard, *A prospective randomized trial comparing transurethral prostatic resection and clean intermittent self-catheterization in men with chronic urinary retention.* BJU Int, 2005. **96**(1): p. 93-7.
152. Reich, O., et al., *Morbidity, mortality and early outcome of transurethral resection of the prostate: a prospective multicenter evaluation of 10,654 patients.* J Urol, 2008. **180**(1): p. 246-9.
153. Ahyai, S.A., K. Lehrich, and R.M. Kuntz, *Holmium laser enucleation versus transurethral resection of the prostate: 3-year follow-up results of a randomized clinical trial.* Eur Urol, 2007. **52**(5): p. 1456-63.
154. Dorflinger, T., et al., *Transurethral prostatectomy compared with incision of the prostate in the treatment of prostatism caused by small benign prostate glands.* Scand J Urol Nephrol, 1992. **26**(4): p. 333-8.
155. Jensen, K.M., T.B. Jorgensen, and P. Mogensen, *Long-term predictive role of urodynamics: an 8-year follow-up of prostatic surgery for lower urinary tract symptoms.* Br J Urol, 1996. **78**(2): p. 213-8.
156. Kuntz, R.M., K. Lehrich, and S.A. Ahyai, *Holmium laser enucleation of the prostate versus open prostatectomy for prostates greater than 100 grams: 5-year follow-up results of a randomised clinical trial.* Eur Urol, 2008. **53**(1): p. 160-6.
157. Naspro, R., et al., *Holmium laser enucleation of the prostate versus open prostatectomy for prostates >70 g: 24-month follow-up.* Eur Urol, 2006. **50**(3): p. 563-8.
158. Skolarikos, A., et al., *Eighteen-month results of a randomized prospective study comparing transurethral photoselective vaporization with transvesical open enucleation for prostatic adenomas greater than 80 cc.* J Endourol, 2008. **22**(10): p. 2333-40.
159. Gratzke, C., et al., *Complications and early postoperative outcome after open prostatectomy in patients with benign prostatic enlargement: results of a prospective multicenter study.* J Urol, 2007. **177**(4): p. 1419-22.
160. Yang, Q., et al., *Transurethral incision compared with transurethral resection of the prostate for bladder outlet obstruction: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials.* J Urol, 2001. **165**(5): p. 1526-32.
161. Lourenco, T., et al., *Minimally invasive treatments for benign prostatic enlargement: systematic review of randomised controlled trials.* BMJ, 2008. **337**: p. a1662.
162. Tkocz, M. and A. Prajsner, *Comparison of long-term results of transurethral incision of the prostate with transurethral resection of the prostate, in patients with benign prostatic hypertrophy.* Neurourol Urodyn, 2002. **21**(2): p. 112-6.

163. Berges, R.S.T., *Benignes Prostatasyndrom*, in *Urologie*, H. Huland, Editor. 2006, Springer: Heidelberg. p. 166-174.
164. Hennenberg, M., et al., *The cAMP effector EPAC activates Elk1 transcription factor in prostate smooth muscle, and is a minor regulator of alpha1-adrenergic contraction*. *J Biomed Sci*, 2013. **20**: p. 46.
165. Helpap, B., *Histopathologie*, in *Benigne Prostata Hyperplasie*, C. Stief, Jonas, U., Höfner, K., Editor. 2000, Springer.
166. Bauer, R.M., et al., *Coupling of alpha1-adrenoceptors to ERK1/2 in the human prostate*. *Urol Int*, 2011. **86**(4): p. 427-33.
167. Strittmatter, F., et al., *Alpha1-adrenoceptor signaling in the human prostate involves regulation of p38 mitogen-activated protein kinase*. *Urology*, 2011. **78**(4): p. 969 e7-13.
168. Strittmatter, F., et al., *Thromboxane A2 induces contraction of human prostate smooth muscle by Rho kinase- and calmodulin-dependent mechanisms*. *Eur J Pharmacol*, 2011. **650**(2-3): p. 650-5.
169. Strittmatter, F., et al., *Inhibition of adrenergic human prostate smooth muscle contraction by the inhibitors of c-Jun N-terminal kinase, SP600125 and BI-78D3*. *Br J Pharmacol*, 2012. **166**(6): p. 1926-35.
170. Strittmatter, F., et al., *Activation of protein kinase B/Akt by alpha1-adrenoceptors in the human prostate*. *Life Sci*, 2012. **90**(11-12): p. 446-53.
171. J., R., *Grundlagen der Muskelphysiologie*, in *Duale Reihe Physiologie*, B. J., Editor. 2012, Thieme: Stuttgart. p. 56-68.
172. Christ, G.J. and K.E. Andersson, *Rho-kinase and effects of Rho-kinase inhibition on the lower urinary tract*. *Neurourol Urodyn*, 2007. **26**(6 Suppl): p. 948-54.
173. Somlyo, A.P. and A.V. Somlyo, *Signal transduction by G-proteins, rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II*. *J Physiol*, 2000. **522 Pt 2**: p. 177-85.
174. Schwinn, D.A. and C.G. Roehrborn, *Alpha1-adrenoceptor subtypes and lower urinary tract symptoms*. *Int J Urol*, 2008. **15**(3): p. 193-9.
175. Andersson, K.E. and C. Gratzke, *Pharmacology of alpha1-adrenoceptor antagonists in the lower urinary tract and central nervous system*. *Nat Clin Pract Urol*, 2007. **4**(7): p. 368-78.
176. Andersson, K.E., *LUTS treatment: future treatment options*. *Neurourol Urodyn*, 2007. **26**(6 Suppl): p. 934-47.
177. Yamada, S. and Y. Ito, *alpha(1)-Adrenoceptors in the urinary tract*. *Handb Exp Pharmacol*, 2011(202): p. 283-306.
178. Walden, P.D., C. Gerardi, and H. Lepor, *Localization and expression of the alpha1A-1, alpha1B and alpha1D-adrenoceptors in hyperplastic and non-hyperplastic human prostate*. *J Urol*, 1999. **161**(2): p. 635-40.
179. Hennenberg, M., et al., *Mechanisms of extrahepatic vasodilation in portal hypertension*. *Gut*, 2008. **57**(9): p. 1300-14.
180. Somlyo, A.P. and A.V. Somlyo, *Ca²⁺ sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase*. *Physiol Rev*, 2003. **83**(4): p. 1325-58.
181. Somlyo, A.P., et al., *Pharmacomechanical coupling: the role of calcium, G-proteins, kinases and phosphatases*. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 1999. **134**: p. 201-34.
182. Rees, R.W., et al., *Y-27632, a Rho-kinase inhibitor, inhibits proliferation and adrenergic contraction of prostatic smooth muscle cells*. *J Urol*, 2003. **170**(6 Pt 1): p. 2517-22.
183. Takahashi, R., et al., *RhoA/Rho kinase-mediated Ca²⁺ sensitization in the contraction of human prostate*. *Neurourol Urodyn*, 2007. **26**(4): p. 547-51.

184. Inoue, A., et al., *The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1989. **86**(8): p. 2863-7.
185. Yanagisawa, M., et al., *Primary structure, synthesis, and biological activity of rat endothelin, an endothelium-derived vasoconstrictor peptide*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1988. **85**(18): p. 6964-7.
186. Yanagisawa, M., et al., *A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells*. Nature, 1988. **332**(6163): p. 411-5.
187. Sokolovsky, M., *Endothelins and sarafotoxins: physiological regulation, receptor subtypes and transmembrane signaling*. Trends Biochem Sci, 1991. **16**(7): p. 261-4.
188. Tao, W., et al., *Endothelin receptor A is expressed and mediates the [Ca²⁺]_i mobilization of cells in human ciliary smooth muscle, ciliary nonpigmented epithelium, and trabecular meshwork*. Curr Eye Res, 1998. **17**(1): p. 31-8.
189. Langenstroer, P., et al., *Endothelin-1 in the human prostate: tissue levels, source of production and isometric tension studies*. J Urol, 1993. **150**(2 Pt 1): p. 495-9.
190. Saita, Y., et al., *Endothelin receptors and their cellular signal transduction mechanism in human cultured prostatic smooth muscle cells*. Br J Pharmacol, 1997. **121**(4): p. 687-94.
191. Ukai, M., et al., *In vitro and in vivo effects of endothelin-1 and YM598, a selective endothelin ET A receptor antagonist, on the lower urinary tract*. Eur J Pharmacol, 2008. **580**(3): p. 394-400.
192. Hiraoka, Y., et al., *Characterization of the endothelin receptor subtypes in human prostate*. J Cardiovasc Pharmacol, 2000. **36**(5 Suppl 1): p. S252-4.
193. Walden, P.D., et al., *Endothelin-1 production and agonist activities in cultured prostate-derived cells: implications for regulation of endothelin bioactivity and bioavailability in prostatic hyperplasia*. Prostate, 1998. **34**(4): p. 241-50.
194. Webb, M.L., et al., *Cloning and expression of an endothelin receptor subtype B from human prostate that mediates contraction*. Mol Pharmacol, 1995. **47**(4): p. 730-7.
195. Levin, E.R., *Endothelins*. N Engl J Med, 1995. **333**(6): p. 356-63.
196. Collins, C., et al., *Potential for control of detrusor smooth muscle spontaneous rhythmic contraction by cyclooxygenase products released by interstitial cells of Cajal*. J Cell Mol Med, 2009. **13**(9B): p. 3236-50.
197. Nakahata, N., *Thromboxane A₂: physiology/pathophysiology, cellular signal transduction and pharmacology*. Pharmacol Ther, 2008. **118**(1): p. 18-35.
198. Palea, S., et al., *Pharmacological characterization of thromboxane and prostanoid receptors in human isolated urinary bladder*. Br J Pharmacol, 1998. **124**(5): p. 865-72.
199. Kunit, T., et al., *Inhibition of smooth muscle force generation by focal adhesion kinase inhibitors in the hyperplastic human prostate*. Am J Physiol Renal Physiol, 2014. **307**(7): p. F823-32.
200. Wang, Y., et al., *Inhibition of prostate smooth muscle contraction and prostate stromal cell growth by the inhibitors of Rac, NSC23766 and EHT1864*. Br J Pharmacol, 2015. **172**(11): p. 2905-17.
201. Mossessova, E., J.M. Gulbis, and J. Goldberg, *Structure of the guanine nucleotide exchange factor Sec7 domain of human arno and analysis of the interaction with ARF GTPase*. Cell, 1998. **92**(3): p. 415-23.
202. Hennenberg, M., et al., *Defective RhoA/Rho-kinase signaling contributes to vascular hypocontractility and vasodilation in cirrhotic rats*. Gastroenterology, 2006. **130**(3): p. 838-54.
203. Hennenberg, M., C.G. Stief, and C. Gratzke, *Pharmacology of the lower urinary tract*. Indian J Urol, 2014. **30**(2): p. 181-8.

204. Fuss, B., et al., *The cytohesin Steppke is essential for insulin signalling in Drosophila*. Nature, 2006. **444**(7121): p. 945-8.
205. Hafner, M., et al., *Inhibition of cytohesins by SecinH3 leads to hepatic insulin resistance*. Nature, 2006. **444**(7121): p. 941-4.
206. Richardson, B.C. and J.C. Fromme, *Biochemical methods for studying kinetic regulation of Arf1 activation by Sec7*. Methods Cell Biol, 2015. **130**: p. 101-26.
207. Salem, J.C., M.M. Reviriego-Mendoza, and L.C. Santy, *ARF-GEF Cytohesin-2/ARNO regulates R-Ras and alpha5-integrin recycling through an EHD1-positive compartment*. Mol Biol Cell, 2015.
208. <http://www.tocris.com/dispprod.php?ItemId=244114#.Vgp1j7Txhd0>.
209. Bouquier, N., et al., *A cell active chemical GEF inhibitor selectively targets the Trio/RhoG/Rac1 signaling pathway*. Chem Biol, 2009. **16**(6): p. 657-66.
210. Shirai, H., M. Autieri, and S. Eguchi, *Small GTP-binding proteins and mitogen-activated protein kinases as promising therapeutic targets of vascular remodeling*. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2007. **16**(2): p. 111-5.
211. Hennenberg, M., et al., *The receptor antagonist picotamide inhibits adrenergic and thromboxane-induced contraction of hyperplastic human prostate smooth muscle*. Am J Physiol Renal Physiol, 2013. **305**(10): p. F1383-90.
212. <http://www.tocris.com/dispprod.php?ItemId=83156#.VZEEzlrWCQ>.
213. [http://www.europeanurology.com/article/S1569-9056\(08\)00169-3/fulltext/endothelin-receptors-as-therapeutic-targets-in-castration-resistant-prostate-cancer](http://www.europeanurology.com/article/S1569-9056(08)00169-3/fulltext/endothelin-receptors-as-therapeutic-targets-in-castration-resistant-prostate-cancer).
214. <http://www.tocris.com/dispprod.php?ItemId=5352#.VX6kClzrWCQ>.
215. Soler, R., et al., *Future direction in pharmacotherapy for non-neurogenic male lower urinary tract symptoms*. Eur Urol, 2013. **64**(4): p. 610-21.
216. Alcaraz, A., et al., *Is there evidence of a relationship between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer? Findings of a literature review*. Eur Urol, 2009. **55**(4): p. 864-73.
217. Orsted, D.D. and S.E. Bojesen, *The link between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer*. Nat Rev Urol, 2013. **10**(1): p. 49-54.
218. Levitt, J.M. and K.M. Slawin, *Prostate-specific antigen and prostate-specific antigen derivatives as predictors of benign prostatic hyperplasia progression*. Curr Urol Rep, 2007. **8**(4): p. 269-74.
219. Yu, O.M. and J.H. Brown, *G Protein-Coupled Receptor and RhoA-Stimulated Transcriptional Responses: Links to Inflammation, Differentiation, and Cell Proliferation*. Mol Pharmacol, 2015. **88**(1): p. 171-80.
220. Reviriego-Mendoza, M.M. and L.C. Santy, *The cytohesin guanosine exchange factors (GEFs) are required to promote HGF-mediated renal recovery after acute kidney injury (AKI) in mice*. Physiol Rep, 2015. **3**(6).
221. Jayaram, B., et al., *Arf nucleotide binding site opener [ARNO] promotes sequential activation of Arf6, Cdc42 and Rac1 and insulin secretion in INS 832/13 beta-cells and rat islets*. Biochem Pharmacol, 2011. **81**(8): p. 1016-27.
222. Davies, J.C., et al., *Cytohesin 2/ARF6 regulates preadipocyte migration through the activation of ERK1/2*. Biochem Pharmacol, 2014. **92**(4): p. 651-60.
223. Torii, T., et al., *Arf6 guanine-nucleotide exchange factor cytohesin-2 regulates myelination in nerves*. Biochem Biophys Res Commun, 2015. **460**(3): p. 819-25.
224. Zhu, W., et al., *Interleukin receptor activates a MYD88-ARNO-ARF6 cascade to disrupt vascular stability*. Nature, 2012. **492**(7428): p. 252-5.
225. El Azreq, M.A., et al., *Cytohesin-1 regulates the Arf6-phospholipase D signaling axis in human neutrophils: impact on superoxide anion production and secretion*. J Immunol, 2010. **184**(2): p. 637-49.

226. Davies, J.C., S.C. Bain, and V. Kanamarlapudi, *ADP-ribosylation factor 6 regulates endothelin-1-induced lipolysis in adipocytes*. *Biochem Pharmacol*, 2014. **90**(4): p. 406-13.
227. Kanamarlapudi, V., et al., *ARF6 activated by the LHCG receptor through the cytohesin family of guanine nucleotide exchange factors mediates the receptor internalization and signaling*. *J Biol Chem*, 2012. **287**(24): p. 20443-55.
228. Pan, T., et al., *Cytohesins/ARNO: the function in colorectal cancer cells*. *PLoS One*, 2014. **9**(3): p. e90997.
229. Pan, T., et al., *Function and mode of action of cytohesins in the epidermal growth factor pathway in colorectal cancer cells*. *Oncol Lett*, 2013. **5**(2): p. 521-526.
230. Bill, A., et al., *Anti-proliferative effect of cytohesin inhibition in gefitinib-resistant lung cancer cells*. *PLoS One*, 2012. **7**(7): p. e41179.
231. Mannell, H.K., et al., *ARNO regulates VEGF-dependent tissue responses by stabilizing endothelial VEGFR-2 surface expression*. *Cardiovasc Res*, 2012. **93**(1): p. 111-9.
232. Bill, A., et al., *Cytohesins are cytoplasmic ErbB receptor activators*. *Cell*, 2010. **143**(2): p. 201-11.
233. Miyamoto, Y., et al., *Signaling through Arf6 guanine-nucleotide exchange factor cytohesin-1 regulates migration in Schwann cells*. *Cell Signal*, 2013. **25**(6): p. 1379-87.
234. Torii, T., et al., *Cytohesin-2/ARNO, through its interaction with focal adhesion adaptor protein paxillin, regulates preadipocyte migration via the downstream activation of Arf6*. *J Biol Chem*, 2010. **285**(31): p. 24270-81.
235. Jayaram, B. and A. Kowluru, *Phagocytic NADPH oxidase links ARNO-Arf6 signaling pathway in glucose-stimulated insulin secretion from the pancreatic beta-cell*. *Cell Physiol Biochem*, 2012. **30**(6): p. 1351-62.
236. Nayak, R.C., et al., *Rho GTPases control specific cytoskeleton-dependent functions of hematopoietic stem cells*. *Immunol Rev*, 2013. **256**(1): p. 255-68.
237. Miller, N.L., E.G. Kleinschmidt, and D.D. Schlaepfer, *RhoGEFs in cell motility: novel links between Rgnef and focal adhesion kinase*. *Curr Mol Med*, 2014. **14**(2): p. 221-34.
238. Artamonov, M.V., et al., *Agonist-induced Ca²⁺ sensitization in smooth muscle: redundancy of Rho guanine nucleotide exchange factors (RhoGEFs) and response kinetics, a caged compound study*. *J Biol Chem*, 2013. **288**(47): p. 34030-40.
239. Al-Shboul, O., et al., *Jun kinase-induced overexpression of leukemia-associated Rho GEF (LARG) mediates sustained hypercontraction of longitudinal smooth muscle in inflammation*. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2014. **306**(12): p. C1129-41.
240. Carbone, M.L., et al., *Angiotensin II activates the RhoA exchange factor Arhgef1 in humans*. *Hypertension*, 2015. **65**(6): p. 1273-8.
241. Chiu, W.C., et al., *Angiotensin II regulates the LARG/RhoA/MYPT1 axis in rat vascular smooth muscle in vitro*. *Acta Pharmacol Sin*, 2012. **33**(12): p. 1502-10.
242. Momotani, K. and A.V. Somlyo, *p63RhoGEF: a new switch for G(q)-mediated activation of smooth muscle*. *Trends Cardiovasc Med*, 2012. **22**(5): p. 122-7.
243. Momotani, K., et al., *p63RhoGEF couples G α (q/11)-mediated signaling to Ca²⁺ sensitization of vascular smooth muscle contractility*. *Circ Res*, 2011. **109**(9): p. 993-1002.
244. Hilgers, R.H., J. Todd, Jr., and R.C. Webb, *Increased PDZ-RhoGEF/RhoA/Rho kinase signaling in small mesenteric arteries of angiotensin II-induced hypertensive rats*. *J Hypertens*, 2007. **25**(8): p. 1687-97.
245. Bai, Y., et al., *Regulating Rac in the nervous system: molecular function and disease implication of Rac GEFs and GAPs*. *Biomed Res Int*, 2015. **2015**: p. 632450.

246. Lawson, C.D. and K. Burridge, *The on-off relationship of Rho and Rac during integrin-mediated adhesion and cell migration*. *Small GTPases*, 2014. **5**: p. e27958.
247. Wu, J.H., et al., *Kalirin promotes neointimal hyperplasia by activating Rac in smooth muscle cells*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013. **33**(4): p. 702-8.
248. Sauzeau, V., et al., *The Rho/Rac exchange factor Vav2 controls nitric oxide-dependent responses in mouse vascular smooth muscle cells*. *J Clin Invest*, 2010. **120**(1): p. 315-30.
249. Goicoechea, S., et al., *Palladin binds to Eps8 and enhances the formation of dorsal ruffles and podosomes in vascular smooth muscle cells*. *J Cell Sci*, 2006. **119**(Pt 16): p. 3316-24.
250. Zuo, L., et al., *Caveolin-1 is essential for activation of Rac1 and NAD(P)H oxidase after angiotensin II type I receptor stimulation in vascular smooth muscle cells: role in redox signaling and vascular hypertrophy*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005. **25**(9): p. 1824-30.
251. Debant, A., et al., *The multidomain protein Trio binds the LAR transmembrane tyrosine phosphatase, contains a protein kinase domain, and has separate rac-specific and rho-specific guanine nucleotide exchange factor domains*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996. **93**(11): p. 5466-71.
252. Hayallah, A.M., *Design and Synthesis of New (SecinH3) Derivatives as Potential Cytohesin Inhibitors*. *Indian J Pharm Sci*, 2014. **76**(5): p. 387-400.
253. Yano, T., et al., *Tara up-regulates E-cadherin transcription by binding to the Trio RhoGEF and inhibiting Rac signaling*. *J Cell Biol*, 2011. **193**(2): p. 319-32.
254. Son, K., T.C. Smith, and E.J. Luna, *Supervillin binds the Rac/Rho-GEF Trio and increases Trio-mediated Rac1 activation*. *Cytoskeleton (Hoboken)*, 2015. **72**(1): p. 47-64.
255. Yan, Y., B.A. Eipper, and R.E. Mains, *Kalirin-9 and Kalirin-12 Play Essential Roles in Dendritic Outgrowth and Branching*. *Cereb Cortex*, 2015. **25**(10): p. 3487-501.
256. Loirand, G., et al., *ARF-independent inhibition of the carbachol-induced contractions by brefeldin A in intestinal smooth muscle*. *Am J Physiol*, 1997. **273**(3 Pt 1): p. C816-21.
257. Grimaldi, G., D. Corda, and G. Catara, *From toxins to mammalian enzymes: the diversity of mono-ADP-ribosylation*. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2015. **20**: p. 389-404.
258. Iglesias, N.G., et al., *Dengue Virus Uses a Non-Canonical Function of the Host GBF1-Arf-COPI System for Capsid Protein Accumulation on Lipid Droplets*. *Traffic*, 2015. **16**(9): p. 962-77.
259. Irurzun, A., L. Perez, and L. Carrasco, *Involvement of membrane traffic in the replication of poliovirus genomes: effects of brefeldin A*. *Virology*, 1992. **191**(1): p. 166-75.
260. Pal, R., et al., *Brefeldin A inhibits the processing and secretion of envelope glycoproteins of human immunodeficiency virus type 1*. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 1991. **7**(8): p. 707-12.
261. Seehafer, K., et al., *Synthesis and biological properties of novel brefeldin A analogues*. *J Med Chem*, 2013. **56**(14): p. 5872-84.
262. Kanamarlapudi, V., et al., *ADP-ribosylation factor 6 expression and activation are reduced in myometrium in complicated pregnancies*. *PLoS One*, 2012. **7**(5): p. e37954.
263. Weizhong, Z., et al., *Inhibition of cytohesin-1 by siRNA leads to reduced IGF1R signaling in prostate cancer*. *Braz J Med Biol Res*, 2011. **44**(7): p. 642-6.
264. Yu, M., et al., *In PC3 prostate cancer cells ephrin receptors crosstalk to beta1-integrins to strengthen adhesion to collagen type I*. *Sci Rep*, 2015. **5**: p. 8206.

265. Zhai, J., et al., *Inhibition of Cytohesins Protects against Genetic Models of Motor Neuron Disease*. J Neurosci, 2015. **35**(24): p. 9088-105.
266. Torii, T., et al., *Arf6 guanine nucleotide exchange factor cytohesin-2 binds to CCDC120 and is transported along neurites to mediate neurite growth*. J Biol Chem, 2014. **289**(49): p. 33887-903.
267. Miyamoto, Y., et al., *Rab35, acting through ACAP2 switching off Arf6, negatively regulates oligodendrocyte differentiation and myelination*. Mol Biol Cell, 2014. **25**(9): p. 1532-42.
268. Rezazadeh, M., et al., *A primate-specific functional GTTT-repeat in the core promoter of CYTH4 is linked to bipolar disorder in human*. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2015. **56**: p. 161-7.
269. Torii, T., et al., *In vivo expression of the Arf6 Guanine-nucleotide exchange factor cytohesin-1 in mice exhibits enhanced myelin thickness in nerves*. J Mol Neurosci, 2013. **51**(2): p. 522-31.
270. Kolanus, W., *Guanine nucleotide exchange factors of the cytohesin family and their roles in signal transduction*. Immunol Rev, 2007. **218**: p. 102-13.
271. Hawadle, M.A., et al., *Cytohesins and centaurins control subcellular trafficking of macromolecular signaling complexes: regulation by phosphoinositides and ADP-ribosylation factors*. Biol Res, 2002. **35**(2): p. 247-65.
272. Fu, Y., et al., *Cytohesin-3 is upregulated in hepatocellular carcinoma and contributes to tumor growth and vascular invasion*. Int J Clin Exp Pathol, 2014. **7**(5): p. 2123-32.
273. Tehrani, N., et al., *The insulin/IGF signaling regulators cytohesin/GRP-1 and PIP5K/PPK-1 modulate susceptibility to excitotoxicity in C. elegans*. PLoS One, 2014. **9**(11): p. e113060.
274. Liu, J., et al., *Stepping stone: a cytohesin adaptor for membrane cytoskeleton restraint in the syncytial Drosophila embryo*. Mol Biol Cell, 2015. **26**(4): p. 711-25.
275. Lee, D.M., et al., *PH Domain-Arf G Protein Interactions Localize the Arf-GEF Steppke for Cleavage Furrow Regulation in Drosophila*. PLoS One, 2015. **10**(11): p. e0142562.
276. Lee, D.M. and T.J. Harris, *An Arf-GEF regulates antagonism between endocytosis and the cytoskeleton for Drosophila blastoderm development*. Curr Biol, 2013. **23**(21): p. 2110-20.
277. Streng, T., et al., *Effects on bladder function of combining elocalcitol and tolterodine in rats with outflow obstruction*. BJU Int, 2012. **110**(2 Pt 2): p. E125-31.
278. Gratzke, C., et al., *Cannabitor, a selective cannabinoid-2 receptor agonist, improves bladder emptying in rats with partial urethral obstruction*. J Urol, 2011. **185**(2): p. 731-6.
279. Fullhase, C., et al., *Urodynamic evaluation of fesoterodine metabolite, doxazosin and their combination in a rat model of partial urethral obstruction*. BJU Int, 2010. **106**(2): p. 287-93.
280. Ganzer, R., et al., *Anatomical description of the periprostatic nerves in the male rhesus monkey (Macaca mulatta)*. World J Urol, 2011. **29**(3): p. 375-80.
281. Gratzke, C., et al., *Distribution and function of cannabinoid receptors 1 and 2 in the rat, monkey and human bladder*. J Urol, 2009. **181**(4): p. 1939-48.
282. Gratzke, C., et al., *Effects of long-term dietary soy treatment on female urethral morphology and function in ovariectomized nonhuman primates*. J Urol, 2008. **180**(5): p. 2247-53.
283. Fullhase, C., et al., *Systematic review of combination drug therapy for non-neurogenic male lower urinary tract symptoms*. Eur Urol, 2013. **64**(2): p. 228-43.

-
284. Lee, H.N., et al., *Rate and associated factors of solifenacin add-on after tamsulosin monotherapy in men with voiding and storage lower urinary tract symptoms*. Int J Clin Pract, 2015. **69**(4): p. 444-53.
 285. Kim, T.N., et al., *Reasons for prescription change of alpha1-blockers in patients with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia*. Urology, 2014. **84**(2): p. 427-32.
 286. Matsukawa, Y., et al., *Efficacy of silodosin for relieving benign prostatic obstruction: prospective pressure flow study*. J Urol, 2013. **189**(1 Suppl): p. S117-21.
 287. Cindolo, L., et al., *Drug adherence and clinical outcomes for patients under pharmacological therapy for lower urinary tract symptoms related to benign prostatic hyperplasia: population-based cohort study*. Eur Urol, 2015. **68**(3): p. 418-25.

8 Anhang

8.1 Veröffentlichungen

Journal: American Journal of Physiology, Renal Physiology

Title: Inhibition of smooth muscle contraction and ARF 6 activity by the inhibitor for cytohesin GEFs, secinH3 in the human prostate

Authors: Annika Herlemann, *Patrick Keller*, Melanie Schott, Alexander Tamalunas, Anna Ciotkowska, Beata Rutz, Yiming Wang, Qingfeng Yu, Raphaela Waidelich, Frank Strittmatter, Christian G. Stief, Christian Gratzke, Martin Hennenberg

8.3 Danksagung

Bei den Versuchen im Labor und der Fertigstellung der vorliegenden Promotion unterstützten mich zahlreiche Personen von denen ich die Wichtigsten im Folgenden nennen will.

Mein erster Dank geht an das Team des Pathologischen Instituts des Klinikum Großhadern unter der Leitung von Prof. Dr. med. Thomas Kircher, welches für die Präparation des Prostatagewebes verantwortlich war. Die schnelle und optimale Bereitstellung des Gewebes trug wesentlich zum konstanten Arbeitsfluss bei.

Für die technische Assistenz im urologischen Forschungslabor danke ich Frau Dipl. Chem. Beata Rutz und Frau Dipl. Chem. Anna Ciotkowska.

Herrn Alexander Tamalunas danke ich für die gute Einarbeitung an den Organbädern und die ständige Bereitschaft für die Beantwortung aufkommender Fragen während der Anfangszeit.

Den größten Dank widme ich Herrn PD Dr. rer. nat. Martin Hennenberg, der mich bei meiner Arbeit im Labor tatkräftig unterstützte. Die Bereitschaft mir in jeder Phase der Promotion entweder mit Tat oder Rat zur Seite zu stehen war außerordentlich. Gleichzeitig wurde durch ihn meine Begeisterung für wissenschaftliche medizinische Forschung geweckt. Für die Unterstützung und die Einblicke in die Welt der Forschung bin ich sehr dankbar.

Herrn Prof. Dr. med. Gratzke, der als Leiter des urologischen Forschungslabor fungiert, danke ich für die Möglichkeit meine Experimente durchziehen zu können und für das Vertrauen ein wichtiges Thema der Urologie behandeln zu dürfen.

Für die zur Verfügung gestellten Mittel der Wissenschaft und Forschung im urologischen Forschungslabor des Klinikum Großhadern danke ich Herrn Prof. Dr. med. Christian G. Stief. Unter seiner Leitung wächst der Standort Großhadern zu einem der wichtigsten urologischen

Zentren Deutschlands und ich bin stolz darauf, dass ich mit meiner Arbeit einen kleinen Teil dazu beitragen kann.

Dem kompletten chirurgischen Team der Urologie Großhadern danke ich für die sauberen und raschen operativen Prostatektomien, welche die Grundlage für optimale Versuchsbedingungen darstellte.

Ein besonderer Dank geht an meine Laborpartnerin, Kommilitonin und guten Freundin Melanie Schott. Unsere Zusammenarbeit und gegenseitige Unterstützung trug zur raschen Fertigstellung der Promotion bei und machte zudem die Zeit im Labor zu einer unvergesslichen.

Zuletzt danke ich meiner Familie, die mich in jeder Lebenslage unterstützt. Meinem Vater Siegmund, meiner Mutter Cornelia, meiner Schwester Carolin, meinem Schwager Achim, meiner Nichte Eliza und meinem Neffen Lukas, für moralische sowie sachbezogene Unterstützung und Liebe.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit eigenständig und ohne fremde Hilfe angefertigt habe. Textpassagen, die wörtlich oder dem Sinn nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit wurde bisher keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch noch nicht veröffentlicht.

München, 01.08.2019 Patrick Keller
