

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

**Neue medikamentöse Optionen in der Therapie nicht-neurogener
Blasentleerungsstörungen bei Männern und Management des
medikamentenrefraktären Benigen Prostatasyndroms**



Habilitationsschrift
zur Erlangung der Venia legendi
für das Fach
Experimentelle Urologie

vorgelegt von
Dr. med. Alexander Justin Tamalunas
aus
München
2021

Inhaltsverzeichnis

1	Rationale	4
1.1	Symptome des unteren Harntrakts	4
1.2	Das Benigne Prostatasyndrom (BPS)	5
1.3	Kontraktilitäts- und Wachstumsmechanismen in der humanen Prostata	7
1.4	Das medikamentenrefraktäre BPS	10
2	Ziele	13
3	Materialien und Methoden	15
3.1	Experimenteller Teil	15
3.1.1	Prostatagewebe	15
3.1.2	Zellkultur	16
3.1.3.1	Zellproliferationsassay	17
3.1.3.2	Phalloidin-färbung	17
3.1.3.3	Zytotoxizitätsassay	17
3.1.3.4	Durchflusszytometrie	18
3.1.3.5	Plate Colony Assay	18
3.1.3	Organbadversuche	18
3.1.4	Statistische Auswertung	19
3.2	Klinischer Teil	20
3.2.1	Holmiumlaser-Enukleation der Prostata	20
3.2.2	Studienkohorten	20
3.2.3	Statistische Auswertung	21

4	Vorstellung der Arbeiten	22
4.1	Thalidomid als mögliche neue medikamentöse Therapieoption	22
4.2	Thalidomid-Derivate als mögliche neue medikamentöse Therapieoptionen	31
4.3	Der Einfluss von α_1 -Blockern und 5 α -Reduktase-Inhibitoren auf die funktionellen Ergebnisse der HoLEP	43
4.4	Einsatz und Effektivität der HoLEP bei Patienten ≥ 80 Jahre	49
4.5	Die HoLEP als größenunabhängiges Enukleationsverfahren	54
5	Zusammenfassende Diskussion und Schlussfolgerungen	62
5.1	Neue Medikamentöse Ansätze in der Pharmakotherapie des BPS	62
5.2	HoLEP als neuer Therapiestandard beim medikamentenrefraktären BPS	68
6	Zusammenfassung	76
7	Literaturverzeichnis	78
8	Publikationsliste	88
8.1	Originalarbeiten aus der Habilitationsleistung	88
8.2	Originalarbeiten als Erst- oder Letztautor	88
8.3	Originalarbeiten als Koautor	89
8.4	Übersichtsartikel und Reviews	92
9	Danksagungen	93

1. Rationale

1.1 Symptome des unteren Harntraktes

Das klinische Erkrankungsbild der obstruktiven und irritativen Miktionsstörungen des unteren Harntraktes wird als „Symptome des unteren Harntraktes“ („lower urinary tract symptoms“, LUTS) zusammengefasst. LUTS umfassen einerseits sog. „Blasentleerungsstörungen“ und andererseits sog. „Blasenspeicherstörungen“^{1,2}. Als Ursache liegt der Blasenauslass- oder Entleerungsstörung meist eine Obstruktion der Harnröhre durch eine gutartige Vergrößerung der Prostata bzw. eine benigne Prostatahyperplasie (BPH) zugrunde^{1,3-5}. In diesem Fall spricht man von einem Benigen Prostatasyndrom (BPS) (s. Abb. 1)^{2,3}. Symptomatisch äußert sich dieses in einer prolongierten Miktion, postmiktionellem Nachträufeln, Restharnbildung, Pressmiktion und Harnstrahlunterbrechung während der Miktion⁶⁻⁸. Speicherstörungen liegt meistens eine überaktive Blase (overactive bladder, OAB) zugrunde^{8,9}. Die BPS-bedingten Symptome können unterschiedlich ausgeprägt sein und führen mindestens zu erheblichen Einbußen der Lebensqualität bis hin zu sozialem Rückzug und Depressionen, oder schlimmstenfalls zu lebensbedrohlichem Harnverhalt und Nierenversagen^{2,8,10}.

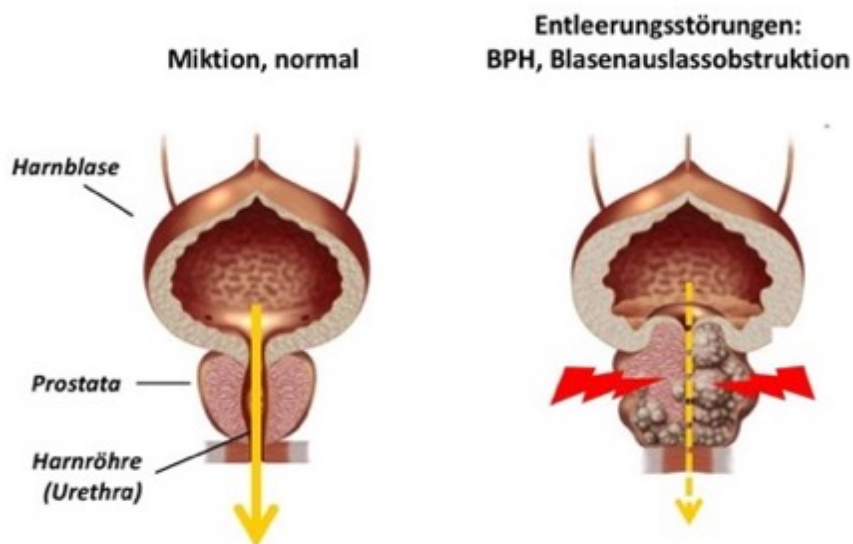


Abb. 1: Bedeutung der glattmuskulären Kontraktion und Zellhyperplasie in der humanen Prostata für die Symptome des unteren Harntraktes. In der Prostata kommt es u.a. durch eine gutartige Zellhyperplasie und eine übermäßige α_1 -adrenerge Kontraktion häufig zur benignen Prostata-Obstruktion. Beide Prozesse sind Angriffspunkt für wichtige medikamentöse LUTS-Therapien (α_1 -Blocker, 5α -Reduktase-Hemmer). (Grafik: modifiziert, nach Quelle: Deutscher Grafikinfolienst)

die Hälfte der Betroffenen werden bei einer BPH symptomatisch ¹¹⁻¹³. Bei einem BPS sind der veränderte glattmuskuläre Tonus in der Prostata sowie die Hyperplasie durch Proliferation der glatten Muskelzellen im Stroma und der Drüsenepithelzellen die Angriffspunkte der medikamentösen Therapie (Abb. 1) ^{11,14,15}. Dementsprechend kommt dem Verständnis der glattmuskulären Kontraktion im unteren Harntrakt eine große Bedeutung zu.

1.2 Das benigne Prostatasyndrom (BPS)

Die Ursache der Benigen Prostataobstruktion (BPO) ist einerseits gekennzeichnet durch eine mechanische Verengung der Harnröhre, was auch als „statische Komponente“ bezeichnet wird und sich aus dem gutartigen Prostatawachstum ergibt, und andererseits durch einen erhöhten Tonus der glatten Muskulatur in Urethra, Blasenhalshals und Prostata; Letzteres beschreibt die „dynamische Komponente“ ^{2,9,16-19}. Diese zwei wesentlichen Faktoren sind Hauptangriffspunkte für die medikamentöse Therapie der LUTS infolge eines BPS ^{7,12,16}. Entscheidend beim BPS ist nicht nur die Volumenzunahme der Prostata, sondern auch der übermäßige α_1 -adrenerge Tonus der glatten Muskulatur in Blasenhalshals und Prostata (Abb. 2) ^{2,20,21}. Die Prostata besteht histologisch gesehen aus ca. 40 % glatter Muskulatur ². Als initiale Standardtherapie werden somit α_1 -Adrenozeptor-Antagonisten eingesetzt, die den α_1 -Adrenozeptor der glatten Prostatamuskulatur kompetitiv hemmen und so zu einer Herabsetzung des glattmuskulären Tonus und einer Verbesserung der Blasenentleerung und des Harnflusses führen ^{5,12,16,17,22,23}.

Bei der Therapie mit 5 α -Reduktase-Inhibitoren (5-ARI) steht die Reduktion der Prostatagröße im Vordergrund ^{2,24-26}. Dieser Effekt wird durch Hemmung der von dem Enzym 5 α -Reduktase (5-AR) katalysierten Reaktion von Testosteron in das biologisch hochaktive Hormon Dihydrotestosteron erreicht ^{27,28}. Es kommt zur Induktion einer Apoptose von Prostatazellen und so zu einer Verringerung des Prostatavolumens ^{7,12,22}.

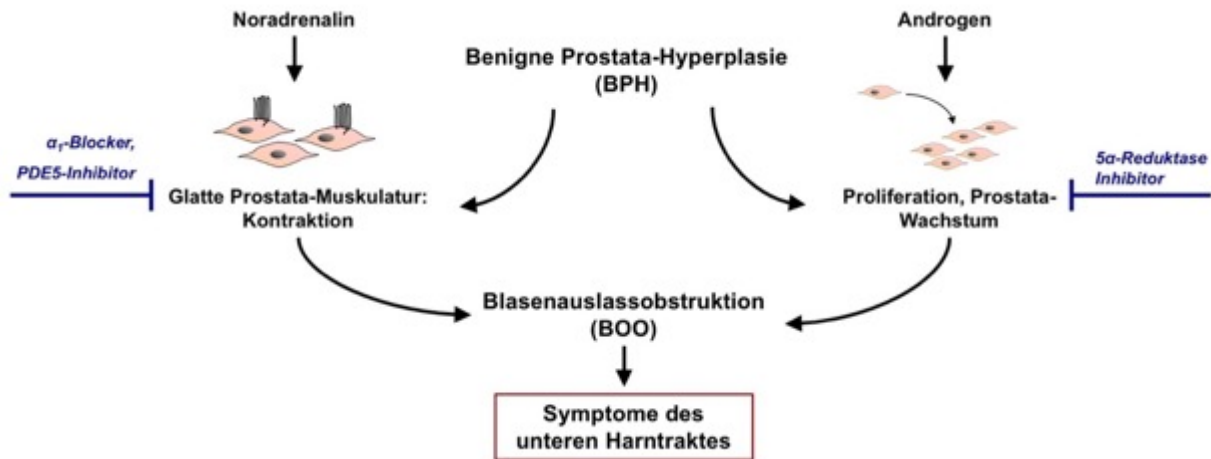


Abb. 2: Schematische Darstellung des BPS. Bei der benignen Prostatahyperplasie kann es zum einen durch eine erhöhte α_1 -adrenerge Kontraktion der glatten Prostata Muskulatur und zum anderen durch das Wachstum der Prostata zu einer Blasenauslassobstruktion kommen. Entstehen dadurch Symptome spricht man von einem benignen Prostatasyndrom (BPS). Als mögliche pharmakologische Angriffspunkte stehen demnach die Kontraktion sowie das Wachstum der Prostata zur Verfügung.

Durch beide Therapieoptionen kann eine subjektive Verbesserung der Symptome des Patienten erreicht werden. Diese sind als Zunahme des Harnstrahls (Q_{max}), Abnahme der vom Patienten wahrgenommenen Symptome (gemessen als *international prostate symptom score*, IPSS) und abnehmende Restharnbildung objektiv messbar ²⁹. Es kann jedoch weder durch Mono- noch durch Kombinationstherapien eine vollständige Verminderung der Beschwerden erreicht werden ^{7,12}. Die Behandlung mit 5-AR-Inhibitoren wird eingesetzt, um die Progression der BPH aufzuhalten, und so das Risiko für Operationen und Komplikationen zu senken. Dennoch ist die Anzahl der BPH-bedingten Operationen (ablative Verfahren) nach wie vor hoch. So finden allein am Klinikum Großhadern über 600 minimal-invasive Eingriffe zur Prostadesobstruktion pro Jahr statt, während die Zahlen in den USA um etwa 1.000 Eingriffe pro 100.000 Einwohner pro Jahr schwanken ³⁰.

1.3 Kontraktilitäts- und Wachstumsmechanismen in der Prostata

Die dynamische Komponente der LUTS infolge eines BPS beschreibt im Wesentlichen die glattmuskuläre Kontraktion²⁰. Da die Prostata histologisch gesehen aus ca. 40 % glatter Muskulatur besteht, kommt der Regulation des glattmuskulären Tonus eine bedeutende Rolle zu (Abb. 3)². Dieser erfolgt maßgeblich über α_1 -Adrenozeptoren der glatten Muskelzellen. Es kommt nach Bindung von Noradrenalin an den α_1 -Adrenozeptor zur Aktivierung des intrazellulären Rho-Kinase-Signalwegs und parallel über Calcium-abhängige und Protein-Kinase C (PKC)-vermittelte Mechanismen zur glattmuskulären Kontraktion^{5,20,31-35}. Seit längerem schon ist bekannt, dass neben den Adrenozeptoren noch andere Mediatoren als Agonisten an der glattmuskulären Kontraktion beteiligt sind³⁶. So wird aus einer hohen Anzahl klinischer Studien, insbesondere mit α_1 -Blockern, diesbezüglich immer deutlicher, dass Verbesserungen der Miktionsymptome durch verfügbare Medikamente gewissen Grenzen unterliegen. Im Durchschnitt treten nie vollständige Verbesserungen auf, und Placeboeffekte können bei der medikamentösen Therapie männlicher LUTS beträchtlich sein. Wie oben beschrieben reduzieren α_1 -Blocker die Symptome und Q_{max} um maximal 50 % bzw. 40 %²⁰. Aber auch Placebos können zu einer Verbesserung des IPSS von bis zu 30 % und des Q_{max} mindestens bis zu 15 % bewirken^{10,12,25,37}. Die Rate der Non-Responder ist hoch, so dass 30-35 % der Patienten auf α_1 -Blocker mit einer IPSS-Abnahme von nicht mehr als 25 % ansprechen und bis zu 69 % der Patienten von α_1 -Blockern enttäuscht sind^{10,38,39}. Die limitierte Wirksamkeit kann, zusammen mit einem ungünstigen Nebenwirkungsprofil, zu den hohen Abbruchraten beitragen: 12 Monate nach der ersten Verordnung von α_1 -Blockern setzten nur noch 35 % der Patienten ihre Medikation fort^{40,41}.

Zumindest bei α_1 -Blockern kann die begrenzte Wirksamkeit durch nicht-adrenerge Mediatoren der Kontraktion der glatten Prostatamuskulatur erklärt werden, die zum intraprostatatischen Tonus der glatten Muskulatur, zur Harnröhren- und Blasenaustritts-obstruktion beitragen, aber gegen α_1 -Blocker resistent sind^{20,36}. Beispiele hierfür sind nicht-adrenerge Agonisten wie Thromboxan und Endothelin⁴². Thromboxan A2 (TXA2), wie auch Endothelin, können eine Kontraktion in verschiedenen glatten Muskelzellen mittels Bindung an den jeweiligen Rezeptor induzieren⁴³⁻⁴⁷. Es wird vermutet, dass der Beitrag diverser nicht-adrenerger Agonisten zum Tonus der glatten Prostatamuskulatur die begrenzte Wirksamkeit

der Therapie mit α_1 -Adrenozeptor-Antagonisten erklären kann^{20,48}. In vitro liegt das Ausmaß der Endothelin-1-induzierten Kontraktionen des menschlichen Prostatagewebes in einem ähnlichen Bereich der α_1 -adrenergen Kontraktionen. Der maximale Tonus der glatten Prostatamuskulatur hat seine Obergrenze im Bereich der α_1 -adrenergen und Endothelin-1-induzierten Kontraktionen und kann durch nicht-adrenerge Mediatoren auch ohne Beteiligung der α_1 -Adrenozeptor-Aktivierung erreicht werden³⁶. Folglich addieren sich maximale α_1 -adrenerge und maximale nicht-adrenerge Kontraktionen nicht³⁶. Allerdings kann diese submaximale adrenerge Kontraktion durch nicht-adrenerge Mediatoren „vervollständigt“ werden⁴⁸. Dies führt zu der Annahme, dass nicht-adrenerge Mediatoren trotz Behandlung mit α_1 -Blockern den vollen intraprostatatischen Tonus der glatten Muskulatur beim BPS aufrechterhalten können^{20,48}. Da parallel zu den α_1 -Adrenozeptoren diese nicht-adrenergen Agonisten an der glattmuskulären Prostatakontraktion beteiligt sind, scheint es nicht verwunderlich, dass sich die Effekte von herkömmlichen α_1 -Blockern auf lediglich 50 % beschränken.

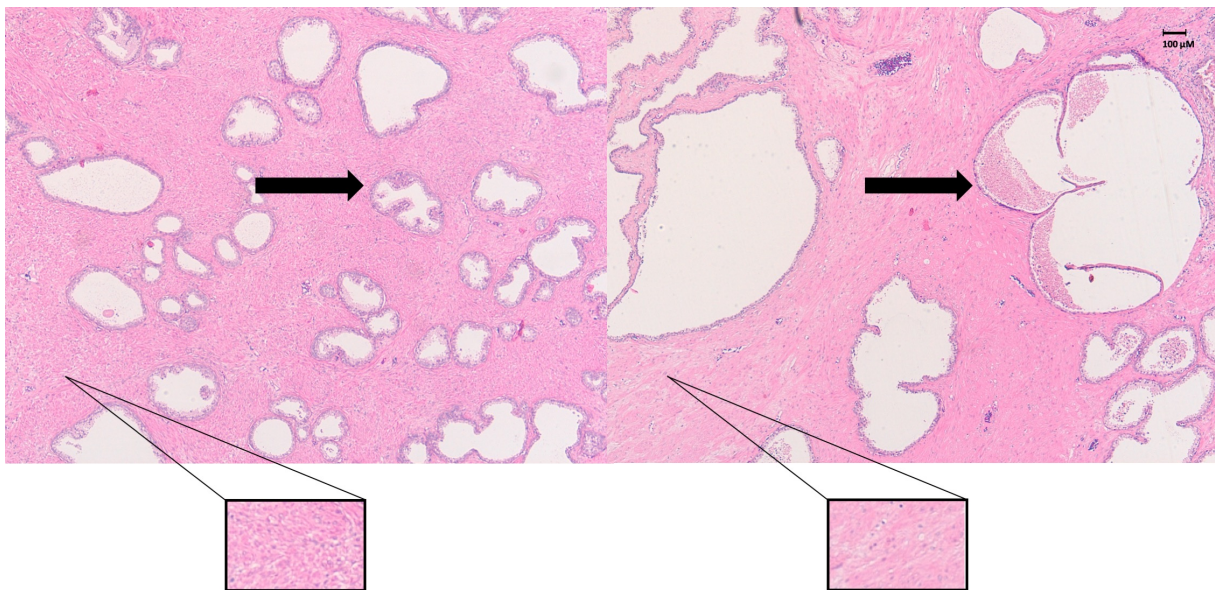


Abb. 3: Physiologisches Prostatagewebe (links) und hyperplastisch verändertes Prostatagewebe (rechts) in Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Physiologisches Prostatagewebe (links) zeigt Anschnitte tubuloalveolärer Drüsen mit zweireihigem Epithel (Pfeil) und dazwischen von glatten Muskelzellen durchzogenes, eosinophiles Bindegewebe (sog. fibromuskuläres Stroma; Vergrößerung). Das hyperplastisch veränderte Prostatagewebe (rechts) zeigt eine deutliche Hyperproliferation der glatten Muskulatur und des Prostatastromas mit spindelförmigen Zellen und länglich ausgezogenen Zellkernen (=Muskelzellen; Vergrößerung), durch Sekretstau stark erweiterte Drüsenlichtungen mit eingedicktem intraluminalem Sekret und atrophischem Drüsenepithel (Pfeil) bei erhaltener epithelialer Zweischichtung ohne Atypien (basalständige Zellkerne). Quelle: modifiziert nach Dr. med. Stephan Ledderose, Pathologisches Institut der LMU München.

Neben dem Tonus der glatten Prostatamuskulatur kommt in der Behandlung des BPS auch dem Prostatawachstum eine besondere Bedeutung zu. Wachstumsfaktoren scheinen, neben Androgenen, ebenfalls entscheidende Regulatoren des Prostatawachstums zu sein. Insbesondere scheinen dabei EGF (*epidermal growth factor*), IGF (*insulin-like growth factor*) und bFGF (*basic fibroblast growth factor*), sowie TGF- α und TGF- β (*transforming growth factor*) eine Rolle zu spielen ⁴⁹⁻⁵². Solche Wachstumsfaktoren agieren als Vermittler von Wachstum, Apoptose und Differenzierung im Zellzyklus ⁵². Dem TGF- β wird dabei eine Rolle bei der Apoptose zugeordnet ⁵⁰.

Die mäßige Symptomreduktion in Kombination mit den oft erheblichen Nebenwirkungen führt zu einer niedrigen Compliance der Patienten, und so setzten etwa 65 % der Patienten die Medikation innerhalb der ersten 12 Monate nach Behandlungsbeginn eigenständig ab ⁴⁰. Auch Kombinationstherapien mit 5-ARI sind noch lange nicht zufriedenstellend, sondern führen häufig zu einer Addition der Nebenwirkungen und somit zu ebenfalls hohen Abbruchraten ^{38,53}. Die weithin bekannten unerwünschten Arzneimittelwirkungen reichen dabei von retrograder Ejakulation und orthostatischer Dysregulation bis hin zu Gynäkomastie und Libidoverlust ^{2,24,25,54}. Die chirurgische Intervention im Sinne einer transurethralen Prostataresektion (TURP) weist eine Reinterventionsrate von bis zu 16 % nach acht Jahren auf und ist mit erheblichen intra- und postoperativen Risiken verbunden, wie etwa dem TUR-Syndrom und der retrograden Ejakulation ^{55,56}. Eine Erklärung, warum selbst Kombinationstherapien zu derart hohen Abbruchraten führen, könnte in der Addition der Nebenwirkungen bei zeitgleich geringer Symptomreduktion liegen.

Ein ideales Monopräparat zur BPS-Behandlung der Zukunft würde also bei guter Verträglichkeit gleichzeitig in die adrenerge und nicht-adrenerge Kontraktion eingreifen, und das Wachstum von Prostatazellen hemmen.

1.4 Das medikamentenrefraktäre BPS

In der histologischen Untersuchung ist die BPH ein echter hyperplastischer Prozess, bei dem eine quantitative Zunahme der Zellzahl sowohl in der periurethralen als auch in der Übergangszone der Prostata auftritt. Es ist sowohl eine Stroma- als auch eine Drüsenproliferation zu beobachten, wobei die Stromaknoten überwiegend in der periurethralen Zone und die Drüsenzellproliferation in der Übergangszone stattzufinden scheinen⁵⁷. In der Pathophysiologie der LUTS kommt dabei einerseits der statischen Komponente, die durch das Prostatawachstum gekennzeichnet ist, andererseits auch der dynamischen Komponente, die hauptsächlich auf die α_1 -Adrenozeptor-vermittelte Kontraktion der glatten Prostata-Muskulatur zurückzuführen ist, eine besondere Bedeutung zu^{20,21}. Während durch verschiedene Medikamente eine Relaxation der glatten Muskulatur erreicht wird, ist die statische Obstruktion eine direkte Folge der Prostatavergrößerung (*benign prostatic enlargement*, BPE) und führt zu einer Kompression der Harnröhre (*bladder outlet obstruction*, BOO). Dies führt zu einem zunehmenden Widerstand, der bei der Miktion zunächst überwunden werden muss. Zusätzlich führt der durch die Prostatavergrößerung anatomisch veränderte Blasenauslass zu einer weiteren Behinderung des Harnflusses^{58,59}. Wenn überhaupt, verringern 5-ARI die Prostatagröße um nicht mehr als 25 % und das Fortschreiten dieses chronischen Krankheitsbildes stellt eine große Herausforderung dar^{60,61}.

LUTS in Folge von BPO sind eine chronisch-progressive Erkrankung. Die Volumenzunahme der Prostata schreitet mit dem Alter voran und nimmt pro Jahr um ca. 2,5 % zu⁶². Aktuell ist in der westlichen Welt ein demographischer Wandel mit einer Verschiebung hin zu einer immer älteren Bevölkerung zu beobachten. Bereits im Jahr 2040 wird jeder vierte Amerikaner und Kanadier über 65 Jahre alt sein⁶³. Da die Prostatagröße mit dem Alter zunimmt, wird in Zukunft auch die Prävalenz von LUTS/BPO ansteigen⁶². Typischerweise ist der urologische Patient bei seiner Erstvorstellung mit LUTS/BPO 65 Jahre oder älter und hat dabei ein erhöhtes Risiko für deutlich höhere Prostatavolumina^{64,65}. Auch liegt bei dieser vulnerablen Patientengruppe eine höhere Prävalenz weiterer Komorbiditäten vor, die oftmals mit Polypharmazie (≥ 5 Medikamente für ≥ 3 Erkrankungen gleichzeitig) einhergeht und so die medikamentöse Therapie des BPS an ihre Grenzen bringt⁶⁴⁻⁶⁶. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen der gängigen BPS-Therapeutika sind oftmals therapielimitierend. So

kann es gerade unter einer medikamentösen Therapie mit α -Adrenozeptorantagonisten zu orthostatischer Hypotonie, Schwindel und Sturzneigung kommen, während 5-ARI starke Hitzewallungen und Libidoverlust verursachen können⁶⁷. Zusammen mit der limitierten Wirksamkeit, führt dies zu einem ungünstigen Gleichgewicht zwischen unerwünschten Arzneimittelwirkungen und Wirksamkeit der LUTS-Medikation^{40,68}. Bereits bis zu 49 % der Patienten, die sich zu einer operativen Behebung ihrer BPO entschließen, haben in dem Jahr vor ihrer Operation LUTS-Medikamente eingenommen⁶⁹. Somit erfährt ein erheblicher Anteil der BPS-Patienten keine adäquate Linderung ihrer Symptome durch die bestehenden Medikamente. Da diese medikamentenrefraktären LUTS-Patienten meist bereits über einen längeren Zeitraum an ihren Symptomen leiden, damit älter, fragiler und vulnerabler sind und oftmals größte Prostatavolumina aufweisen, gilt es auch ihnen ein entsprechendes Verfahren anzubieten.

Seit Langem schon gilt die transurethrale Resektion der Prostata (TURP) als operative Referenzmethode und Goldstandard bei moderat vergrößerten Prostataadenomen⁶¹. Mit der Holmium-Laser-Enukleation der Prostata (HoLEP) ist seit 1996 ein größenunabhängiges Verfahren zur endoskopischen Prostataenukleation hinzugekommen^{70,71}. Die HoLEP zeigt sich als funktionell gleichwertig zur TURP und ist ihr in den perioperativen Komplikationen sogar deutlich überlegen⁷²⁻⁷⁴. Die HoLEP ist in ihrer Effektivität gleichwertig zur offenen Adenomenukleation (OAE), weist jedoch weniger Blutverlust und eine kürzere Katheterisierungszeit und Liegedauer im Krankenhaus auf^{75,76}. Obwohl die HoLEP mit einer steilen Lernkurve einhergeht und deshalb oft nur an BPH-Zentren angeboten werden kann, ist der relative Zuwachs durchgeführter minimal-invasiver Eingriffe an der Prostata in der HoLEP-Fraktion am höchsten (Abb. 4)^{30,77,78}.

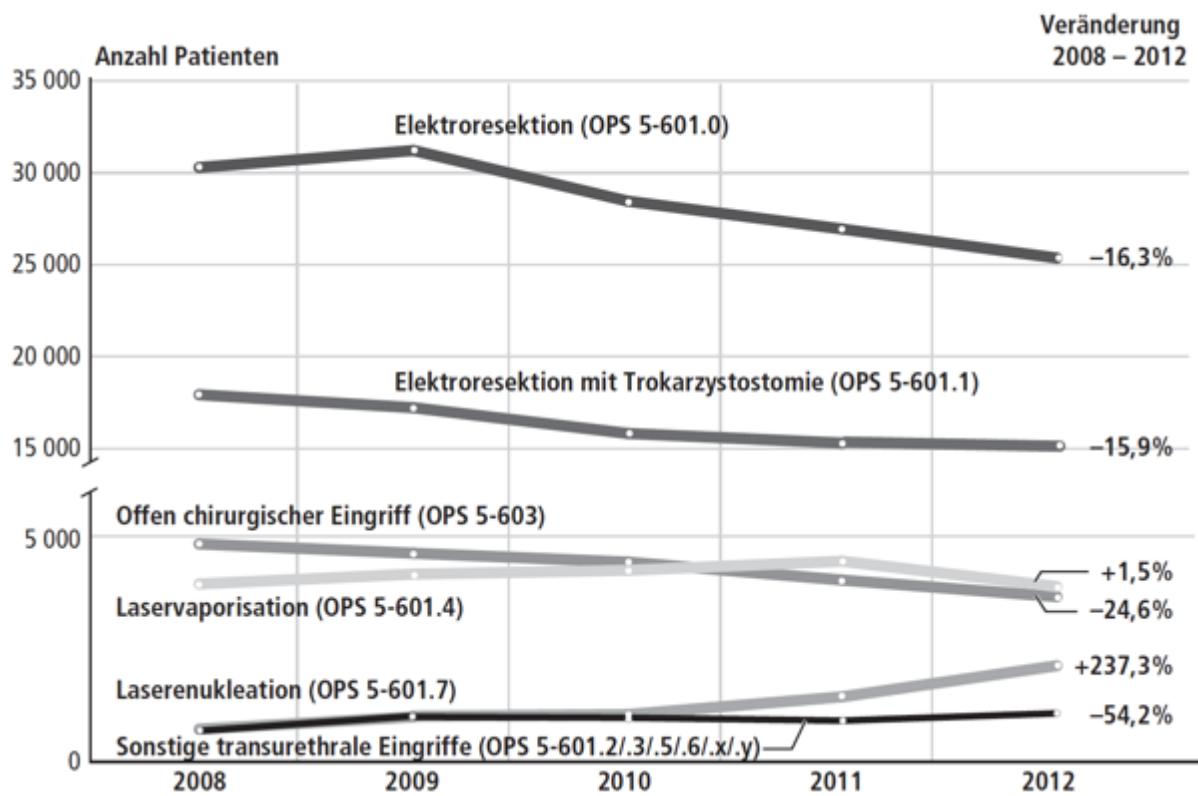


Abb. 4: Entwicklung der Patientenzahlen nach OP-Verfahren bei benignem Prostatasyndrom. 2008-2012. WIdO-Versorgungsreport 2015/2016. Die Grafik verdeutlicht die starke relative Zunahme des OPS-Codes für Laserenukleationen der Prostata um 237,3 %. (Grafik nach Leicht et al. 2016)

2 Ziele

Die medikamentösen Therapieoptionen zur Behandlung der LUTS im Rahmen eines BPS sind zurzeit stark begrenzt²⁰. Aufgrund des Nebenwirkungsprofils, vor allem in der Kombinationstherapie (u. a. retrograde Ejakulation, Einschränkung der Libido), zeigen sich hohe Abbruchraten²⁰. Dies führt zu häufigem Einsatz freiverkäuflicher Phytotherapeutika, obwohl deren Effektivität mit Studien nie belegt werden konnte und die Kosten nicht von den Krankenkassen erstattet werden, oder zum Einsatz der operativen Desobstruktion. Gerade im Hinblick auf den demographischen Wandel unserer Gesellschaft und der damit verbundenen Zunahme der Prävalenz von LUTS/BPS ist weitere Forschung auf den Gebieten der Pathophysiologie und Pharmakologie der Prostata nicht nur wünschenswert, sondern unumgänglich. Großes Potential liegt dabei in Medikamenten, die als Monotherapeutikum sowohl die glattmuskuläre Kontraktion im unteren Harntrakt (und zwar gleichzeitig in die adrenerge und nicht-adrenerge), wie auch die Zellproliferation in der Prostata, hemmen können.

Weiterhin stellen ältere Patienten mit medikamentenrefraktärem BPS und größten Prostatavolumina eine immer größere Herausforderung im Management ihres Krankheitsbildes dar. So gilt es insbesondere die Grenzen der Pharmakotherapie gegen die Vorteile einer endourologischen Enukleation abzuwägen.

Das gemeinsame Ziel besteht hierbei in Verbesserungen und Erweiterungen der Therapieoptionen und -indikationen, um lange ein beschwerdefreies Altern mit bestehender Lebensqualität gewährleisten zu können.

Die Fragestellungen zur Kernthematik der hier vorliegenden Arbeit wurden in folgenden Publikationen näher untersucht:

- Neue medikamentöse Therapieoptionen für Patienten mit LUTS/BPO: Kann Thalidomid Abhilfe schaffen? (Teilprojekt 4.1)
- Thalidomid-Derivate Lenalidomid und Pomalidomid und ihr Einfluss auf die glattmuskuläre Prostatakontraktion und das Prostatazellwachstum (Teilprojekt 4.2)
- Wie beeinflusst die Therapie mit α_1 -Blockern und 5-ARI die funktionellen Ergebnisse nach HoLEP? (Teilprojekt 4.3)
- Die Gesellschaft im demographischen Wandel: Einsatz von HoLEP bei Patienten bei Patienten ≥ 80 Jahre. (Teilprojekt 4.4)
- Das BPS als chronisch-progressive Erkrankung: Ist die HoLEP ein wahrhaft größenunabhängiges Verfahren? (Teilprojekt 4.5)

3. Materialien und Methoden

3.1 Experimenteller Teil

3.1.1 Prostatagewebe

Die hier vorgestellten Arbeiten wurden an nicht-malignen, humanen Prostata-Geweben durchgeführt. Diese stammen von Patienten, bei denen eine radikale Prostatektomie, aufgrund eines Prostatakarzinoms, vorgenommen wurde. Da sich die überwiegende Mehrzahl (ca. 70 %) der Prostata-Tumoren in der peripheren Zone der Prostata befinden, wurden die Proben für die dargestellten Arbeiten aus der periurethralen Zone der Prostata entnommen^{79,80}. Die periurethrale und Übergangszone sind von Bedeutung für die BPH und die BPO von besonderer klinischer Relevanz, während die periphere Zone hierbei eine bestenfalls untergeordnete Rolle spielt⁵⁷. Alle Präparate wurden, während der Probenentnahme, einer makroskopischen Begutachtung durch die präparierenden Pathologinnen und Pathologen unterzogen. Dabei wurden in keiner der asservierten Gewebe Anzeichen für Malignität festgestellt. In seltenen Fällen (<1 % der Prostaten), in denen die makroskopische Begutachtung den Verdacht auf einen starken bzw. fortgeschrittenen Befall der periurethralen Zone ergab, wurde von einer Probenentnahme abgesehen. Bei ca. 80 % der Patienten mit Prostatakarzinom liegt gleichzeitig auch eine BPH vor^{81,82}. Diese kann jedoch unterschiedlich stark ausgeprägt sein. Dies bestätigte sich durch einen schwankenden Gehalt des Prostata-spezifischen Antigens (PSA), der in verschiedenen der vorgestellten Arbeiten in diesen Proben durch Western-Bot Analysen festgestellt wurde (s. Abb. 4). Da der PSA-Gehalt der Prostata tatsächlich mit zunehmendem Grad an BPH steigt, ist insgesamt also davon auszugehen, dass die hier verwendeten Gewebeproben hyperplastisch verändert waren^{81,82}. Ob die hier vorgestellten Ergebnisse nun jedoch spezifisch für den hyperplastischen Zustand sind, kann nicht beurteilt werden, da keine Vergleiche zu Patienten ohne BPH angestellt werden können. Gewebe solcher Patienten sind nicht zugänglich. Letztlich ist bei diesen Überlegungen zu bedenken, dass aus klinischer Sicht jedoch einzig die Situation im hyperplastischen Gewebe relevant ist.

3.1.2 Zellkultur

Zellkulturexperimente wurden an immortalisierten humanen Myofibroblasten aus dem Stroma der peripheren Zone der Prostata durchgeführt (= „WPMY-1-Zellen“). Bei WPMY-1-Zellen handelt es sich um eine immortalisierte Zelllinie aus dem Stroma der humanen Prostata. Eine in diesen Vorarbeiten ebenfalls durchgeführte Analyse verschiedener Marker (Calponin, α_{1A} -Adrenozeptoren, pan-Zytokeratin, Prostata-spezifisches Antigen [PSA]) legt nahe, dass es sich bei WPMY-1-Zellen um glatte Muskelzellen der Prostata handelt (Abb. 5)⁸³. Diese werden zunächst in Kulturmedium ausgesät und im Zellinkubator unter Standardbedingungen bei 37 °C und einer Atmosphäre aus 5 % CO₂ und 95 % Luftfeuchtigkeit kultiviert. Ein Mediumwechsel wird alle 2 Tage durchgeführt und bei ausreichender Konfluenz werden die Zellen passagiert. Nach der Zellzählung und der Bestimmung des für die weiteren Versuche erforderlichen anteiligen Volumens werden die Zellen in die Kulturgefäße der entsprechenden Experimente überführt. Zu untersuchende Zellen werden mit Thalidomid, Lenalidomid oder Pomalidomid inkubiert. Um etwaige Einflüsse des Lösungsmittels auf die Zellen auszuschließen, werden Kontrollzellen in allen Zellkulturexperimenten mit dem jeweiligen Lösungsmittel der zu untersuchenden Substanz behandelt. Als Lösungsmittel wurde in allen Fällen Dimethylsulfoxid (DMSO) verwendet.

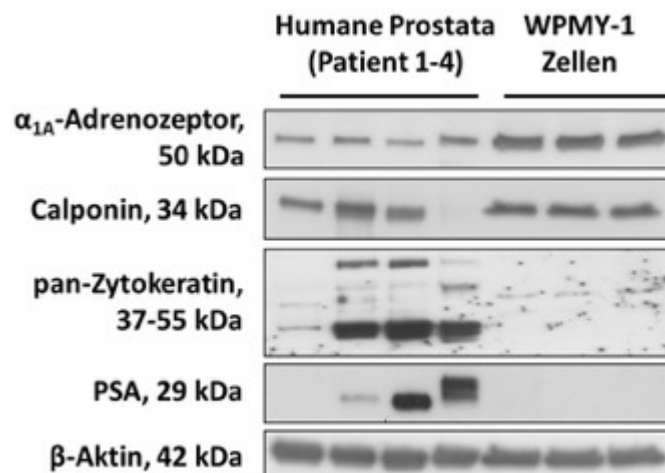


Abb. 5: Vergleich humaner Prostatazellen mit der immortalisierten WPMY-1-Zelllinie aus dem Stroma der humanen Prostata mittels Western-Blot. Die Expression von Calponin (Marker für glatte Muskelzellen) und α_{1A} -Adrenozeptoren, bei gleichzeitigem Fehlen von Zytokeratinen (Marker für Epithelzellen, z. B. Drüsenepithel der Prostata) und Prostata-spezifischem Antigen (Drüsen-Protein) sind typische Merkmale von glatten Muskelzellen der Prostata. Bei WPMY-1-Zellen handelt es sich um eine Zelllinie aus dem Stroma der humanen Prostata. Das Muster der Marker-Expression zeigt, dass es sich tatsächlich um glatte Muskelzellen handelt, bzw. dass WPMY-1-Zellen solchen sehr ähnlich sind (Abb. modifiziert nach Hennenberg, et al 2017)⁸³.

3.1.3.1 Zellproliferationsassay

Durch die Zugabe von Ethinyldesoxyuridin (EdU) kann die Proliferation der WPMY-1-Zellen fluoreszenztechnisch visualisiert werden. Nachdem das Thymidin-Analogon EdU bei der DNA-Neusynthese in teilungsaktive Zellen eingebaut wurde, kann es mit verschiedenen Farbstoffen konjugiert werden, wodurch die replizierte DNA mit dem Fluoreszenzmarker angefärbt wird. In den hier gezeigten Versuchen wird die Zellproliferation mittels Zugabe von Thalidomid, Lenalidomid oder Pomalidomid konzentrationsabhängig stimuliert. Die behandelten Zellen werden über verschiedene Zeiträume stimuliert und anschließend unter dem Fluoreszenzmikroskop mit nicht-stimulierten Kontrollen verglichen. Anschließend wird die Rate an proliferierenden Zellen im Vergleich zur Gesamtzahl der Zellen in beiden Gruppen berechnet.

3.1.3.2 Phalloidininfärbung

Um zu überprüfen, ob Thalidomid, Lenalidomid und Pomalidomid Veränderungen des Zytoskeletts hervorrufen, wird eine Phalloidininfärbung durchgeführt. Zur Anfärbung des Zytoskeletts von WPMY-1-Zellen wird ein Fluoreszein-Isothiocyanat (FITC)-gekoppeltes Phalloidin verwendet. Phalloidin ist ein Pilzgift, welches eine hohe Affinität zu polymerisiertem Aktin hat. Mittels Fluoreszenzmikroskopie wird das zytoskelettale Gerüst der stimulierten Zellen analysiert und mit den nicht-behandelten Kontrollgruppen verglichen.

3.1.3.3 Zytotoxizitätsassay

Der Zytotoxizitätstest dient der Quantifizierung der lebenden Zellen im Versuchsansatz. Als sensible Färbemethode setzt man das "Cell Counting Kit-8" (CCK-8) ein. Dieser Kit enthält hydrophiles Tetrazoliumsalz, das von Dehydrogenasen in lebenden Zellen aktiv reduziert wird. Da tote Zellen keine aktiven Enzyme (Dehydrogenasen) besitzen, werden im Zytotoxizitätstest ausschließlich lebende Zellen nachgewiesen.

3.1.3.4 Durchflusszytometrie

Die hier durchgeführte Durchflusszytometrie basiert auf einem Apoptose-Kit (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA) und nutzt Annexin V Allophycocyanin (APC) und 7-Aminoactinomycin D (7-AAD) zum Nachweis in Apoptose befindlicher Zellen (Annexin V-positiv, 7-AAD-negativ) und toter Zellen (Annexin V-positiv, 7-AAD-positiv). Hierfür werden die Zellen in 6-Well-Platten ausgesät und 24 Stunden kultiviert. Nach Zugabe von entweder Thalidomid, Lenalidomid oder Pomalidomid und DMSO für Kontrollen werden die Zellen weitere 24 Stunden inkubiert. Anschließend werden die Zellen mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) gewaschen und in Annexin-V-Bindungspuffer (BD Biosciences) resuspendiert, gefolgt von der Zugabe von 5 µl APC-Annexin V und 5 µl 7-AAD-Reagenz zu jeder Probe. Nach 15-minütiger Inkubation im Dunkeln bei Raumtemperatur werden jeder Probe vor der Analyse durch Durchflusszytometrie 400 µl Bindungspuffer zugesetzt.

3.1.3.5 Plate Colony Assay

Der Plate Colony Assay ist eine seit über 60 Jahren bekannte Methode zur Quantifizierung der Fähigkeit adhärenter Zellen sich nach Exposition gegenüber einem bestimmten Agens in Kolonien > 50 Zellen organisieren zu können^{84,85}. Nach Fixieren und Anfärben der Zellen können die einzelnen Zellkolonien sichtbar gemacht und quantifiziert werden. Die behandelten Zellen werden über einen Zeitraum von einer Woche stimuliert und anschließend unter Weißlicht mit nicht-stimulierten Kontrollen verglichen. Anschließend wird die Anzahl organisierter Zellkolonien im Vergleich zur Gesamtanzahl der Zellkolonien in beiden Gruppen berechnet.

3.1.3 Organbadversuche

Für myographische Messungen an Gewebeproben der humanen Prostata kann ein Organbad verwendet werden. Aufgezeichnet wird hierbei die isometrische glattmuskuläre Kontraktion nach Zugabe kontraktionsauslösender Substanzen, z.B. α_1 -Adrenozeptoragonisten, wie Phenylephrin, Methoxamin und Noradrenalin oder der nicht-adrenergen Agonisten, wie Endothelin oder das Thromboxan-Analogon U46619, sowie neurogen durch elektrische Feldstimulation (EFS). Die Gewebeproben werden in einer Krebs-Henseleit-Lösung an Haken

in der Messvorrichtung eingespannt und deren Temperatur über das integrierte Heizelement bei 37 °C konstant gehalten. Des Weiteren werden die Organkammern mit Carbogen (95 % O₂, 5 % CO₂) begast. Der Sauerstoffanteil simuliert dabei die Gewebeatmung, während der Kohlenstoffdioxidanteil den pH-Wert der Krebs-Henseleit-Lösung bei 7,4 konstant hält und so eine vitalitätserhaltende Umgebung für die Gewebeproben schafft.

3.1.4 Statistische Auswertung

Die Daten sind als Mittelwerte \pm Standardabweichung (SD) bzw. als Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwerts (SEM) mit der angegebenen Anzahl (n) unabhängiger Experimente dargestellt. Die Einweg-Varianzanalyse (ANOVA) wurde zum Vergleich der gesamten Konzentrations-Wirkungs-Kurven verwendet, und die Zweiweg-Varianzanalyse wurde zum Vergleich der Kontraktionen bei einzelnen Konzentrationen oder bei einzelnen Frequenzen verwendet. Die Post-hoc-Analysen wurden mit dem Dunnett-Test zum Vergleich von 3 oder mehr verwandten Gruppen durchgeführt (z. B. wenn zwei Konzentrationen mit einer entsprechenden Kontrolle verglichen wurden). Alle Tests wurden mit SPSS® Version 26 (IBM SPSS Statistics, IBM Corporation, Armonk, New York, USA) durchgeführt. P-Werte $<0,05$ wurden als signifikant angesehen. Die vorliegende Studie und Analysen waren explorativ angelegt und nicht darauf ausgelegt, eine vorab festgelegte statistische Nullhypothese zu testen. Daher sollten die hier angegebenen p-Werte als deskriptiv und nicht als hypothesenprüfend angesehen werden ⁸⁶. Da eine Berechnung deskriptiver p-Werte beabsichtigt war, wurde die Mindestanzahl von Experimenten und Gruppengrößen mit $n=5$ /Gruppe vorgeplant, was in allen Zellkulturexperimenten beibehalten wurde. Daten von Organbadexperimenten wurden analysiert, nachdem mindestens fünf Experimente einer Serie durchgeführt worden waren. Die Serien wurden nach dieser Analyse beendet, wenn in den Konzentrations-Wirkungs-Kurven kein Effekt zu sehen war oder wenn sich in den Konzentrations-Wirkungs-Kurven der vordefinierte p-Wert $<0,05$ zeigte (bei einzelnen Häufigkeiten/Agonistenkonzentrationen und/oder zwischen ganzen Gruppen). Wenn diese ersten Ergebnisse keine p-Werte $<0,05$ zeigten, aber einen Effekt vermuten ließen, wurden die Serien fortgesetzt und erneut analysiert. Dieses Vorgehen war aufgrund des explorativen Charakters der Studien möglich. Tatsächlich werden flexible Gruppengrößen von Leitlinien für ein experimentelles Studiendesign in der experimentellen Pharmakologie empfohlen, wenn

die Daten durch große Schwankungen gekennzeichnet sind, was hier zutrifft ^{87,88}. Somit basierten alle Gruppen, die statistischen Analysen unterzogen wurden, auf fünf oder mehr unabhängigen Experimenten oder schlossen Gewebe von fünf oder mehr Patienten ein, und die minimale Gruppengröße aller Gruppen, die statistischen Tests unterzogen wurden, war n=5. Darüber hinaus zeigten alle Gruppen, die durch statistische Tests miteinander verglichen wurden, identische Gruppengrößen; folglich wurden keine statistischen Vergleiche zwischen Gruppen unterschiedlicher Stichprobengrößen oder zwischen Gruppen, die aus Geweben verschiedener Patienten bestanden, durchgeführt. Keine Daten oder Experimente wurden aus den finalen Analysen ausgeschlossen.

3.2 Klinischer Teil

3.2.1 Holmiumlaser-Enukleation der Prostata

Zur minimal-invasiven Laserenukleation der Prostata stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung: die beiden am häufigsten verwendeten Laser sind der Thulium- und der Holmiumlaser ^{89,90}. Alle an unserem Zentrum durchgeführten Prostataenukleationen wurden mit einem Holmiumlaser und, wenn möglich, als *en-bloc* Enukleation durchgeführt ⁹¹. Alle HoLEPs wurden von erfahrenen Operateuren durchgeführt, die mehr als 200 Operationen pro Jahr durchführen. Hierfür wurde in allen Fällen ein VersaPulse® 100 Watt (W) Holmium Laser (Lumenis Ltd., Yokneam, Israel) mit einer Frequenz 53 Hertz (Hz) und einer Energie-Einstellung von 1,2 Kilojoule (kJ) verwendet. Die Morcellation wurde in mit Hilfe eines mechanischen Gewebemorcellators (R. Wolf, Piranha, Knittlingen, Deutschland) durchgeführt. Alle Patienten erhielten einen 24 Charrière (Ch) Foley-Spülkatheter und postoperativ für 12 Stunden eine kontinuierliche Blasenspülung mit physiologischer Kochsalzlösung (0,9 % NaCl).

3.2.2 Studienkohorten

Die Studienkohorten umfassen, je nach Studiendesign, HoLEP-Eingriffe, die in der Zeit von 2013 bis Ende 2019 ausschließlich an der eigenen Klinik durchgeführt wurden. Die Indikation zur subvesikalen Desobstruktion mittels HoLEP wurde im Einklang mit dem aktuellen

Leitlinienprogramm der *European Association of Urology* (EAU) gestellt ⁶¹. Alle innerhalb der ersten 30 Tage aufgetretenen Komplikationen wurden mittels modifizierter Clavien-Dindo Skala wiedergeben ⁹²⁻⁹⁴. Die Studienkohorten wurden für jede Fragestellung bzw. jedes Studiendesign retrospektiv gebildet und ausgewertet. Für jede dieser Studien wurden jeweils separate computergestützte Datenbanken durchsucht, die relevante Informationen über die Prostatagröße der Patienten, verschiedene klinische Informationen sowie perioperative Daten und Nachsorgeinformationen enthielten. Patienten, die sich bereits mit einliegendem Harnblasendauerkatheter vorstellten, konnten nicht an der präoperativen Uroflowmetrie teilnehmen. Zusätzlich wurden Patienten, mit einem höher als zu erwartenden präoperativen PSA-Wert (d. h. PSA-Dichte > 0,15 ng/ml/cc), auf ein Prostatakarzinom hin untersucht oder, falls eine Entzündung die Ursache für einen erhöhten PSA-Wert war, vor der Operation testgerecht antibiotisch behandelt. Letztere wurden dann vor der endgültigen Operation erneut evaluiert.

3.2.3 Statistische Auswertung

Die statistischen Analysen wurden unter Verwendung der Software SPSS V26.0 (IBM SPSS Statistics, Version 26.0. Armonk, NY) durchgeführt. Die Ergebnisse werden als Median und Interquartilsabstand (*interquartile ratio*, IQR) für kontinuierliche Variablen und als Prozentsatz für kategoriale Variablen angegeben. Univariate Analysen wurden mit dem exakten Test nach Fisher, dem T-Test und dem Mann-Whitney-U-Test für kategoriale Variablen bzw. kontinuierliche Variablen durchgeführt. Für Analysen, in denen drei Gruppen verglichen wurden, verwendeten wir die univariate Varianzanalyse (ANOVA). Alle berichteten p-Werte waren zweiseitig und gelten als statistisch signifikant, wenn $p < 0,05$.

4. Vorstellung der Arbeiten

4.1 Thalidomid als mögliche neue medikamentöse Therapieoption

Erstmals konnte für Thalidomid gezeigt werden, dass es eine signifikante, konzentrationsabhängige Hemmung der Proliferation von Stromazellen der Prostata und eine Hemmung der glattmuskulären Prostatakontraktion herbeiführen kann ⁹⁵.

Inhibition of Human Prostate Stromal Cell Growth and Smooth Muscle Contraction by Thalidomide: A Novel Remedy in LUTS?

Tamalunas A, Sauckel C, Ciotkowska A, Rutz B, Li B, Stief CG, Gratzke C, Hennenberg M.

Prostate. 2021 May;81(7):377-389. doi: 10.1002/pros.24114. Epub 2021 Mar 9.

Hemmung der Zellproliferation

Unbehandelte Zellen wiesen eine Proliferation von $58 \pm 1,7$ % gegenüber den mit Thalidomid inkubierten Zellen von $32 \pm 5,1$ % unter $200 \mu\text{M}$ und $27 \pm 4,6$ % unter $300 \mu\text{M}$ ($p < 0,0001$ Thalidomid vs. Kontrolle; Abb. 6 A) nach 72 Stunden auf. Nach Inkubation über 168 Stunden zeigten die unbehandelten Zellen eine Proliferation $56 \pm 2,3$ % gegenüber den mit 200 und $300 \mu\text{M}$ Thalidomid inkubierten Zellen mit jeweils $29 \pm 5,2$ % und $24 \pm 4,2$ % ($p < 0,01$ und $p < 0,0003$ Thalidomid vs. Kontrolle; Fig. 6 A). In einem Subset mit geringerer Konzentration zeigten die unbehandelten Zellen eine Proliferation von $68 \pm 2,7$ % nach 72 Stunden gegenüber einer Inkubation mit Thalidomid ($10 \mu\text{M}$ und $30 \mu\text{M}$) von $57 \pm 2,4$ % und $51 \pm 1,4$ %, ($p < 0,01$ und $p < 0,001$ Thalidomid vs. Kontrolle; Abb. 6 B).

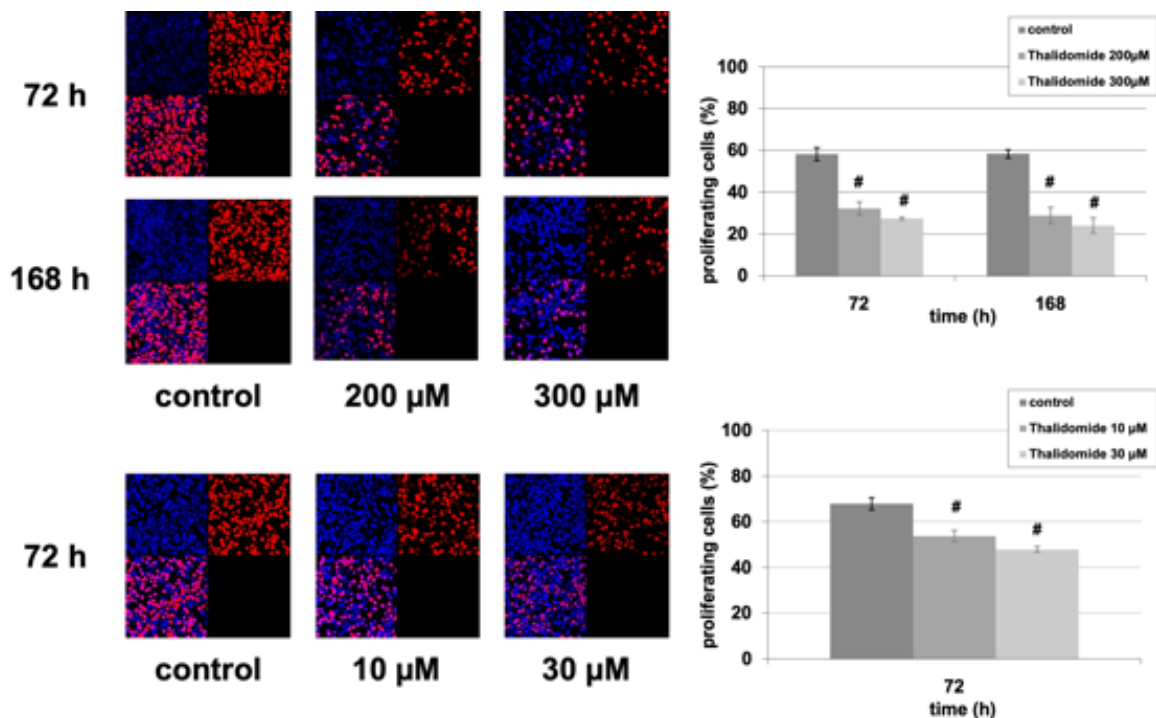


Abb. 6: Hemmung des Wachstums von Stromazellen der Prostata durch Thalidomid (10-300 μM). Dargestellt ist der Prozentsatz der Proliferation (Mittelwert \pm SEM) nach 72 bzw. 168 Stunden aus einer Versuchsreihe unter Verwendung von Zellkulturen in $n=5$ unabhängigen Experimenten für jede Konzentration nach 72 bzw. 168 Stunden. Die Zellen wurden entweder einer Kontroll- oder einer Thalidomidgruppe zugeordnet ($\# p < 0,05$) und 72 oder 168 Stunden inkubiert. Proliferierende Zellen wurden durch EdU-Färbung und Gegenfärbung aller Kerne mit DAPI, gefolgt von Fluoreszenzmikroskopie, nachgewiesen, was zu blau gefärbten Kernen für nicht proliferierende Zellen und roten Kernen für proliferierende Zellen führte. Dargestellt sind beispielhafte Bilder der Zellproliferation nach 72 und 168 Stunden (links) und der Quantifizierung aller Experimente (rechts).

Hemmung der Aktinpolymerisation

Da die korrekte Polymerisation des Aktinzytoskeletts unbedingte Voraussetzung für die glattmuskuläre Kontraktion ist, untersuchten wir die Auswirkungen von Thalidomid auf die Aktinorganisation in kultivierten WPMY-1-Zellen. Thalidomid (10–300 μM , 72 h und 200–300 μM , 168 h; Abb. 7) verursachte eine konzentrationsabhängige Degeneration der Aktinfilamente. Aktinfilamente in mit Lösungsmittel behandelten Kontrollzellen wurden zu Bündeln angeordnet, die lange und dünne Protrusionen bildeten, wobei sich die Ausdehnungen benachbarter Zellen überlappten. Thalidomid verursachte einen konzentrationsabhängigen Verlust der Aktinorganisation bei einer Konzentration von 10-300 μM nach 72 bzw. bei 200-300 μM Thalidomid nach 168 Stunden Inkubationszeit, einschließlich einer reduzierten Aktinpolymerisation und einer Degeneration der langen, schmalen Bündel. Dies führte konzentrationsabhängig zu einem vollständigen Abbau der Aktinfilamentorganisation mit einer abgerundeten Zellform ohne Protrusionen (Abb. 7).

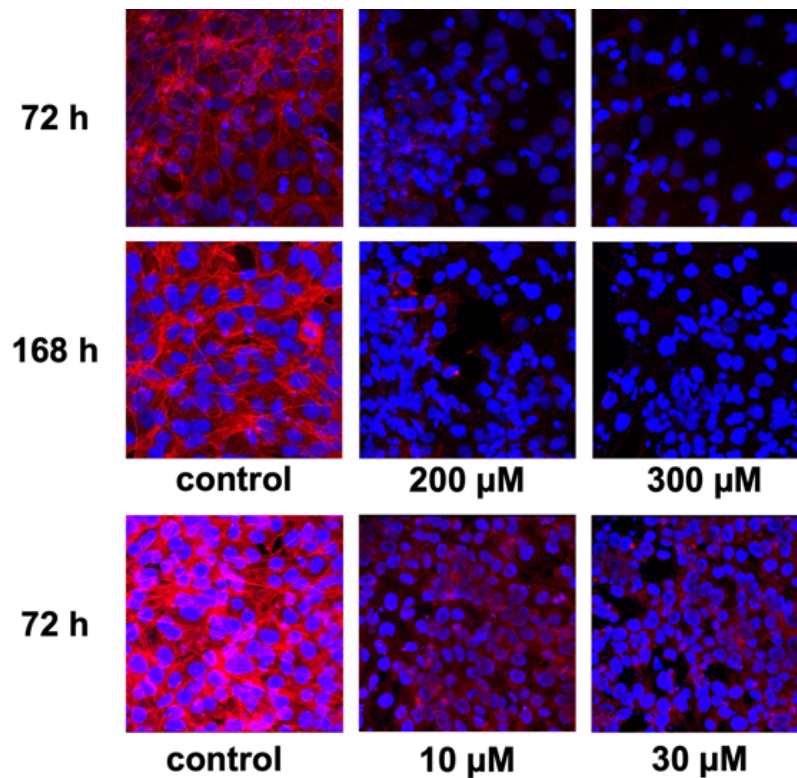


Abb. 7: Effekte von Thalidomid auf die Aktinpolymerisation in einer immortalisierten WPMY-1-Zelllinie aus dem Stroma der humanen Prostata mittels Phalloidin-Färbung. Hemmung der Aktinfilamentorganisation von Prostatastromazellen durch Thalidomid (10-300 µM). Dargestellt sind Aktinfilamente nach 72 und 168 Stunden aus einer Reihe unter Verwendung von Zellkulturen mit n=5 unabhängigen Experimenten für jede Konzentration. Die Zellen wurden entweder einer Kontroll- oder einer Thalidomidgruppe zugeordnet und 72 oder 168 Stunden inkubiert. Aktinfilamente wurden durch Phalloidin-Färbung und Fluoreszenzmikroskopie sichtbar gemacht, während die Kerne unter Verwendung von DAPI-Färbung sichtbar gemacht wurden. Dargestellt sind beispielhafte Bilder nach 72 und 168 Stunden.

Lebensfähigkeit der WPMY-1 Zellen

Die Auswirkung von Thalidomid auf die Lebensfähigkeit von WPMY-1-Zellen wurden durch einen CCK-8-Assay untersucht. Für jede Konzentration und Zeit wurden unabhängige Experimente mit n=5 für jedes Einzelexperiment durchgeführt. Zellen wurden mit niedrigen Konzentrationen von Thalidomid (10 µM, 30 µM) 24-72 Stunden lang inkubiert und zeigten keine Reduktion ihrer Lebensfähigkeit. Nach 24-stündiger Inkubation mit Thalidomid betrug die Überlebensrate $95 \pm 0,5 \%$ ($p=0,68$) bzw. $92 \pm 0,5 \%$ ($p=0,27$) gegenüber den Kontrollen (DMSO) für 10 bzw. 30 µM Thalidomid. Nach 48 Stunden betrug das Überleben $92 \pm 1,5 \%$ ($p=0,61$) und $89 \pm 1,7 \%$ ($p=0,23$) und nach 72 Stunden betrug das Überleben $94 \pm 1,3 \%$ ($p=0,60$) und $89 \pm 2,2 \%$ ($p=0,18$) gegenüber den Kontrollen für 10 bzw. 30 µM Thalidomid (Abb. 8 A). In ähnlicher Weise konnten wir selbst bei höheren Konzentrationen (100-300 µM

Thalidomid, Abb. 8 B) keine signifikante Verringerung des Überlebens nach 72- bzw. 168-stündiger Inkubation feststellen. Nach 72-stündiger Inkubation mit Thalidomid betrug die Überlebensrate $94 \pm 3,6 \%$, $91 \pm 4,0 \%$ und $91 \pm 4,2 \%$ gegenüber Kontrollen für 100 μM , 200 μM bzw. 300 μM ($p=1,0$ für 100 μM , $p=1,0$ für 200 μM und $p=0,72$ für 300 μM Thalidomid vs. Kontrolle). Auch eine längere Anwendung über 168 Stunden reduzierte das Überleben nicht, das $98 \pm 3,9 \%$, $94 \pm 2,9 \%$ und $87 \pm 7,8 \%$ gegenüber den Kontrollen für 100 μM , 200 μM bzw. 300 μM betrug ($p=1,0$ für 100 μM , $p=1,0$ für 200 μM und $p=1,0$ für 300 μM Thalidomid vs. Kontrolle).

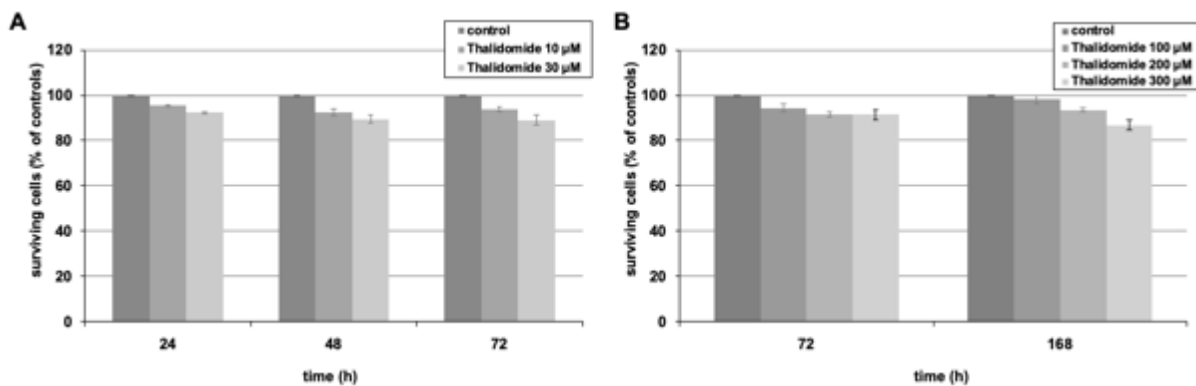


Abb. 8: Lebensfähigkeit von Prostatastromazellen (WPMY-1) nach Stimulation mit Thalidomid (10-300 μM). Gezeigt ist das Überleben von Prostatastromazellen nach 24, 48, 72 und 168 Stunden (% von Kontrollen ohne Thalidomid) aus einer Serie von $n=5$ unabhängigen Einzelexperimenten für jeden Zeitpunkt bzw. jede Konzentration. Die Zellen wurden entweder einer Kontroll- oder einer Thalidomid-Gruppe zugeordnet und 24-168 Stunden inkubiert. Dargestellt ist die Quantifizierung aller Experimente (Mittelwert \pm SEM).

Apoptose und Zelltod in der Durchflusszytometrie

Die Auswirkungen von Thalidomid auf Apoptose und Zelltod wurden durch Durchflusszytometrieanalyse für Annexin V und 7-AAD gezeigt, wobei Annexin V-positive, 7-AAD-negative Zellen frühe Stadien der Apoptose und Annexin V-positive, 7-AAD-positive Zellen tote Zellen darstellen (die entweder aus Apoptose oder Nekrose resultieren können). Thalidomid (300 μM , 72 h) erhöhte weder die Zahl der Zellen in der Apoptose noch der toten Zellen (Abb. 9).

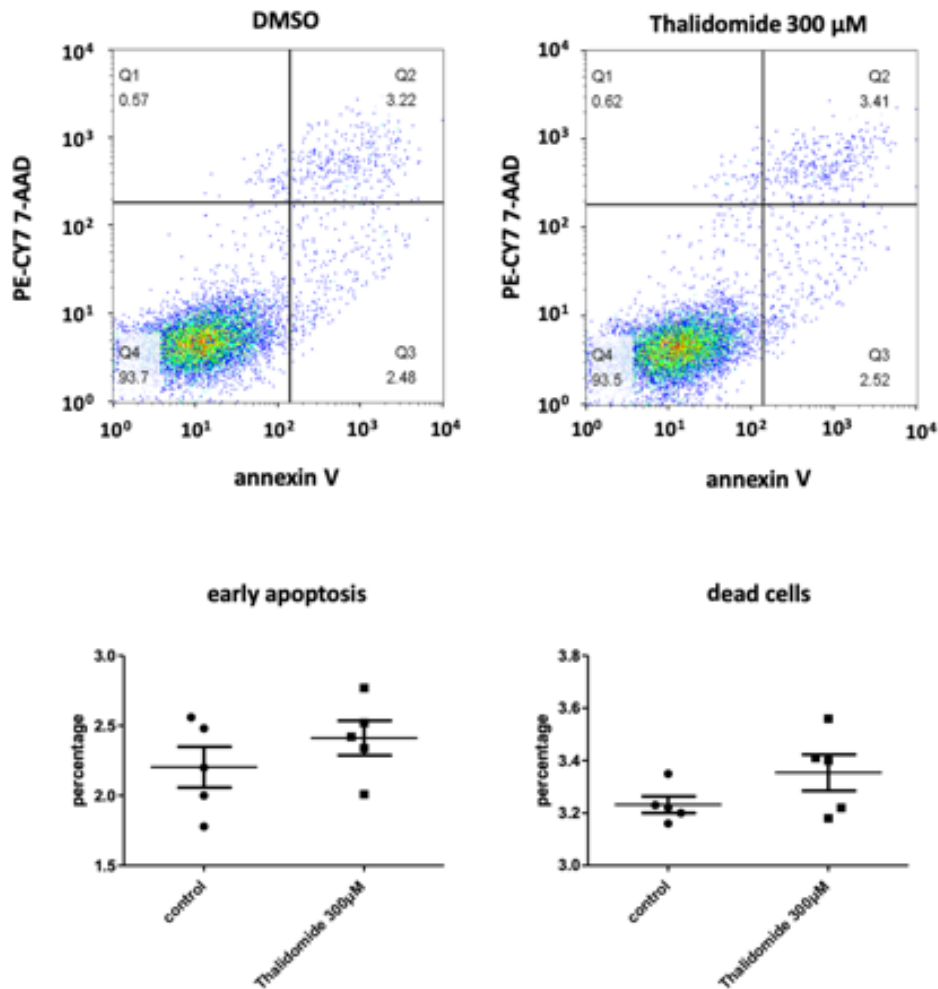


Abb. 9: Apoptose und Zelltod in Prostatastromazellen nach Stimulation mit Thalidomid in der Durchflusszytometrie. Die Durchflusszytometrie wurde durchgeführt, nachdem die Zellen 72 h mit DMSO oder Thalidomid (300 µM) behandelt worden waren. Anschließend zeigt sich die Anzahl der Zellen in Apoptose („frühe Apoptose“; Annexin V-positiv, 7-AAD-negativ) und der toten Zellen (entsprechend Apoptose und/oder Nekrose; Annexin V-positiv, 7-AAD-positiv). Gezeigt sind Mittelwerte ± SEM aus einer Reihe von n=5 unabhängigen Experimenten und repräsentativen Einzelexperimenten.

Koloniebildung der WPMY-1 Zellen

In einem *Cell Colony Assay* wurde die Fähigkeit adhärenter Zellen zur Ausbildung von Kolonien durch Exposition gegenüber Thalidomid signifikant und konzentrationsabhängig reduziert, was zu relativen Koloniezahlen von $78 \pm 2,6 \%$ und $50 \pm 3,5 \%$ gegenüber den Kontrollen (DMSO) für 200 µM bzw. 300 µM Thalidomid führte ($p < 0,001$ und $p < 0,0001$ für 200 µM bzw. 300 µM für Thalidomid vs. Kontrolle nach 168 Stunden) (Abb. 10).

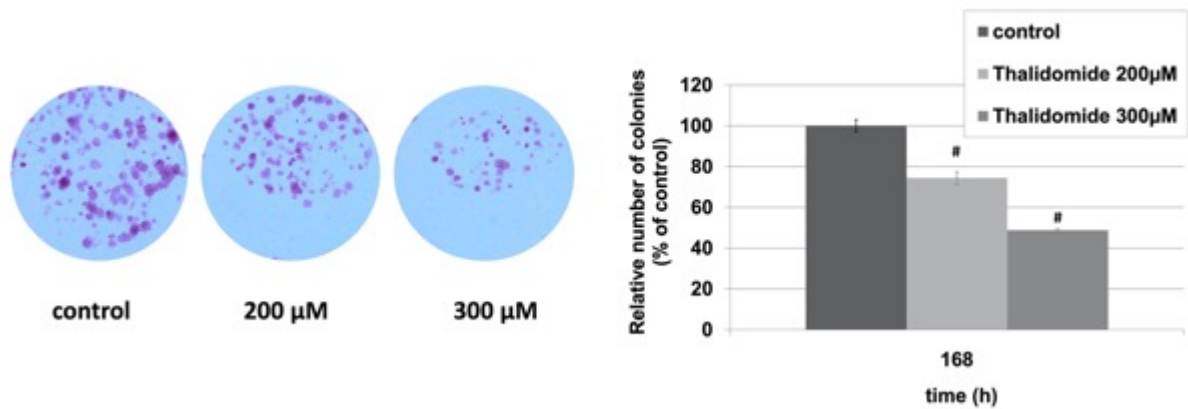


Abb. 10: Hemmung von Zellkolonien durch Thalidomid. Gezeigt ist die relative Koloniezahl nach 168 Stunden (Mittelwert \pm SEM) aus einer Serie mit Zellkulturen aus $n=5$ unabhängigen Experimenten. Die Zellen wurden entweder einer Kontroll- oder einer Thalidomid-Gruppe ($\# p < 0,05$) zugeordnet und 168 h inkubiert. Gezeigt sind beispielhafte Bilder der Kolonieformation nach 168 Stunden (links) und die Quantifizierung aller Experimente (rechts).

Hemmung der glattmuskulären Prostatakontraktion im Organbad

Hemmung der adrenergen Prostatakontraktion

Noradrenalin-induzierte adrenerge Kontraktionen wurden durch Thalidomid (100 μM) in Konzentrationen von 1 bis 100 μM Noradrenalin um bis zu $60 \pm 11,0 \%$ gehemmt ($56 \pm 10,5 \%$ bei 1 μM Noradrenalin, $p < 0,02$; $60 \pm 11,0 \%$ bei 3 μM , $p < 0,01$; $45 \pm 7,9 \%$ bei 10 μM , $p < 0,02$; $51 \pm 9,3 \%$ bei 30 μM , $p < 0,01$; $44 \pm 12,5 \%$ bei 100 μM , $p < 0,01$ für Thalidomid vs. Kontrolle; Abb. 11 A). Thalidomid verursachte eine signifikante Hemmung von bis zu $64 \pm 5,9 \%$ für Methoxamin-induzierte Kontraktionen ($64 \pm 5,9 \%$ bei 3 μM Methoxamin, $p < 0,04$; $55 \pm 8,5 \%$ bei 10 μM , $p < 0,02$; $47 \pm 11,1 \%$ bei 30 μM , $p < 0,01$; $40 \pm 16,3 \%$ bei 100 μM , $p < 0,01$ für Methoxamin vs. Kontrolle; Abb. 11 B). Thalidomid verursachte eine signifikante Hemmung von bis zu $79 \pm 6,9 \%$ für die Phenylephrin-induzierte Kontraktion ($69 \pm 11,7 \%$ bei 3 μM Phenylephrin, $p < 0,03$; $66 \pm 7,4 \%$ bei 10 μM , $p < 0,01$; $79 \pm 6,8 \%$ bei 30 μM , $p < 0,001$; $79 \pm 6,9 \%$ bei 100 μM , $p < 0,001$ für Thalidomid vs. Kontrolle; Abb. 11 C). In einer separaten Serie wurde die Auswirkung von Thalidomid in reduzierter Dosierung (30 μM) auf die Phenylephrin-induzierte Kontraktion untersucht. Es zeigte sich eine Hemmung um bis zu $37 \pm 17,0 \%$ (overall $p < 0,03$ für Thalidomid vs. Kontrolle; Abb. 11 D).

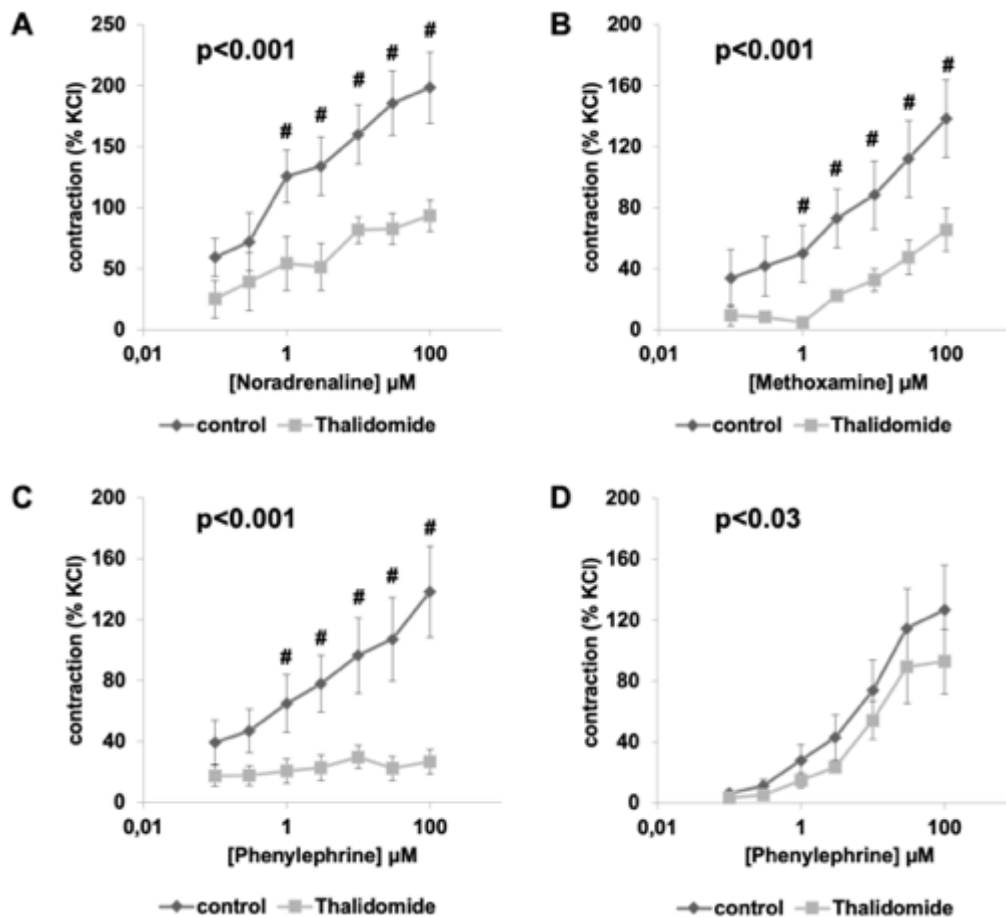


Abb. 11: Auswirkungen von Thalidomid auf adrenerge Kontraktionen des menschlichen Prostatagewebes. Kontraktionen wurden durch die α_1 -Adrenozeptoragonisten Noradrenalin, Methoxamin und Phenylephrin nach Zugabe von Thalidomid (30-100 μM) oder DMSO zur Kontrolle induziert. Um Heterogenitäten aufgrund individueller Variationen, unterschiedlichen BPH-Grades oder anderer variierender glatter Muskelgehalte zu beseitigen, wurden Kontraktionen als Prozentsätze (%) der Kontraktion durch hochmolares KCl ausgedrückt, die vor der Zugabe von Inhibitoren oder Kontrolllösungen erhoben wurden. Die Daten sind Mittelwerte \pm SEM aus Serien mit Geweben von $n=5$ Patienten für Noradrenalin (A), $n=7$ für Methoxamin (B), $n=7$ für Phenylephrin nach Inkubation mit 100 μM Thalidomid (C) und $n=5$ für Phenylephrin nach Inkubation mit 30 μM Thalidomid (D). P-Werte umfassen Werte für jede einzelne Konzentration zwischen beiden entsprechenden Gruppen, die durch Symbole angezeigt werden (# $p < 0,05$ für DMSO gegenüber Thalidomid). Die Proben von jedem Patienten wurden beiden Gruppen innerhalb eines Diagramms zugeordnet, so dass beide Gruppen in jedem Diagramm identische Gruppengrößen hatten.

Hemmung der nicht-adrenergen Prostatakontraktion

Die Endothelin-1 induzierten Kontraktionen wurden um bis zu $74 \pm 19,2$ % durch 100 μM Thalidomid gehemmt ($50 \pm 12,9$ % bei 0.3 μM Endothelin-1, $p < 0,04$; $74 \pm 19,2$ % bei 1 μM , $p < 0,01$; $56 \pm 20,5$ % bei 3 μM , $p < 0,01$ für Thalidomid vs. Kontrolle; Abb. 12 A) sowie um bis zu $27 \pm 2,5$ % mit 30 μM Thalidomid (overall $p < 0,05$; Abb. 12 C). Thalidomid inhibierte nicht-

adrenerge Kontraktionen durch das Thromboxan-A₂-Analogon U46619 um bis zu 106 ± 43,8 % mit 100 µM Thalidomid (106 ± 43,8 % bei 1 µM U46619, p<0,05; 78 ± 22,5 % bei 3 µM, p<0,01; 89 ± 9,0 % bei 10 µM, p<0,001; 81 ± 9,9 % bei 30 µM, p<0,001 für Thalidomid vs. Kontrolle; Abb. 12 B) sowie um bis zu 36 ± 8,8 % mit 30 µM Thalidomid (overall p<0,05; Abb. 12 D).

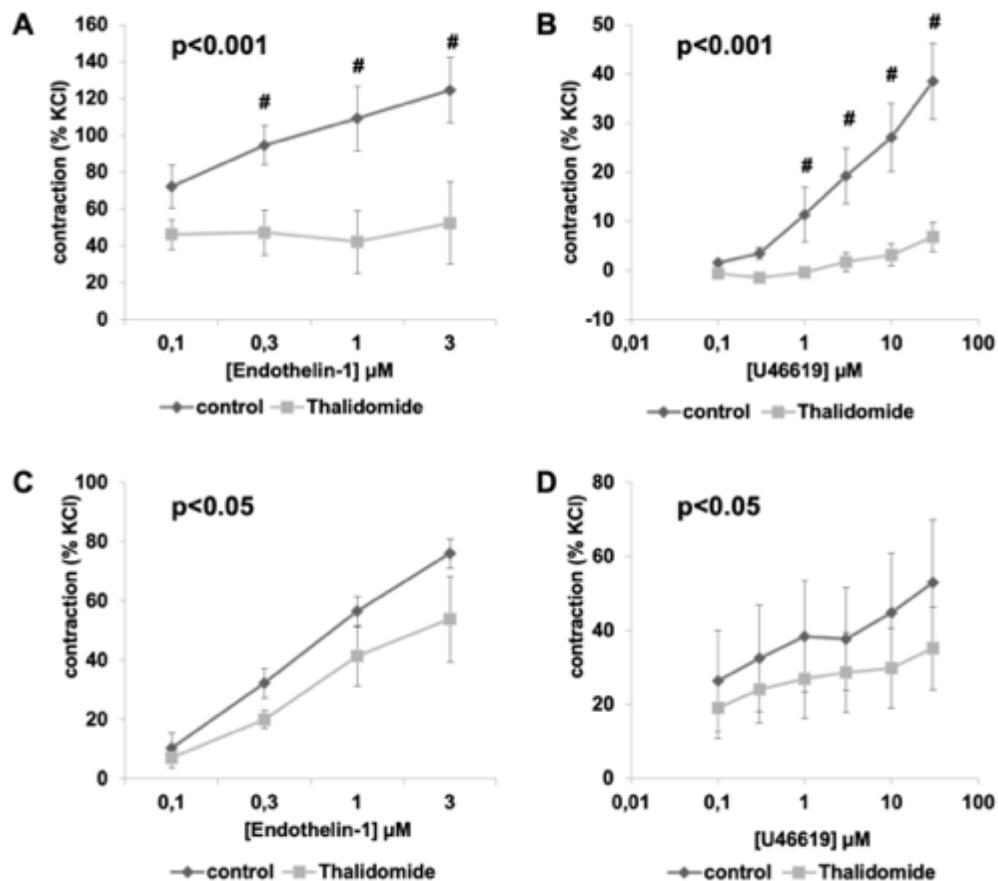


Abb. 12: Auswirkungen von Thalidomid auf die nicht-adrenerge Kontraktion des menschlichen Prostatagewebes. Kontraktionen wurden durch Endothelin-1 und das Thromboxan-A₂-Analogon U46619 nach Zugabe von Thalidomid (30-100 µM) oder DMSO zur Kontrolle induziert. Um Heterogenitäten aufgrund individueller Variationen, unterschiedlichen BPH-Grades oder anderer variierender glatter Muskelgewebe zu beseitigen, wurden Kontraktionen als Prozentsätze (%) der Kontraktion durch hochmolares KCl ausgedrückt, die vor der Zugabe von Inhibitoren oder Kontrolllösungen bewertet wurden. Die Daten sind Mittelwerte ± SEM aus Serien mit Geweben von n=6 Patienten für Endothelin-1 und n=7 Patienten für U46619 nach Inkubation mit 30 µM Thalidomid (A bzw. B) und n=5 Patienten für Endothelin-1 und n=7 Patienten für U46619 nach Inkubation mit 100 µM Thalidomid (C bzw. D). P-Werte umfassen Werte für jede einzelne Konzentration zwischen beiden entsprechenden Gruppen, die durch Symbole angezeigt werden (# p<0,05 für DMSO gegenüber Thalidomid). Die Proben von jedem Patienten wurden beiden Gruppen innerhalb eines Diagramms zugeordnet, so dass beide Gruppen in jedem Diagramm identische Gruppengrößen hatten.

Hemmung der neurogenen Prostatakontraktion

Eine signifikante Hemmung von bis zu $72 \pm 13,5\%$ zeigte sich bei $100 \mu\text{M}$ Thalidomid ($70 \pm 15,2\%$ bei 16 Hz, $p < 0,01$; $72 \pm 13,5\%$ bei 32 Hz, $p < 0,001$ für Thalidomid vs. Kontrolle; Abb. 13 A) und bis zu $37 \pm 10,5\%$ bei $100 \mu\text{M}$ Thalidomid (overall $p < 0,02$; Abb. 13 B).

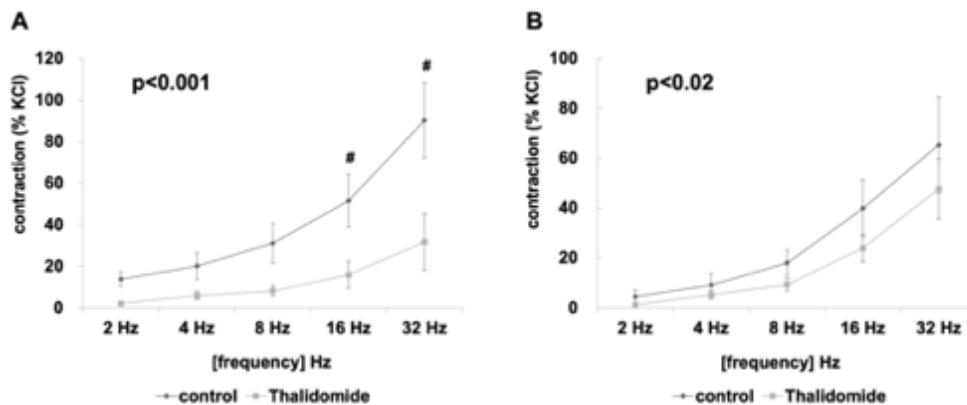


Abb. 13: Auswirkungen von Thalidomid auf die EFS-induzierte neurogene Kontraktion des menschlichen Prostatagewebes. Kontraktionen wurden durch elektrische Feldstimulation (EFS) nach Zugabe von Thalidomid ($30\text{-}100 \mu\text{M}$) oder DMSO zur Kontrolle induziert. Um Heterogenitäten aufgrund individueller Variationen, unterschiedlichen BPH-Grades oder anderer variierender glatter Muskelgewebe zu beseitigen, wurden Kontraktionen als Prozentsätze (%) der Kontraktion durch hochmolares KCl ausgedrückt, die vor der Anwendung von Inhibitoren oder Kontrollösungen bewertet wurden. Die Daten sind Mittelwerte \pm SEM aus Serien mit Geweben von $n=8$ und $n=5$ Patienten für EFS (Frequenz 2-32 Hz) nach Inkubation mit $30 \mu\text{M}$ bzw. $100 \mu\text{M}$ Thalidomid (A und B). P-Werte umfassen Werte für jede einzelne Konzentration zwischen beiden entsprechenden Gruppen, die durch Symbole angezeigt werden (# $p < 0,05$ für DMSO gegenüber Thalidomid). Die Proben von jedem Patienten wurden beiden Gruppen innerhalb eines Diagramms zugeordnet, so dass beide Gruppen in jedem Diagramm identische Gruppengrößen hatten.

Zusammenfassend zeigt Thalidomid eine signifikante, starke und ubiquitäre Hemmung der adrenergen und nicht-adrenergen Prostatakontraktion, ohne dabei zytotoxische Effekte auszuüben. Die weitreichende Hemmung der Prostatakontraktion könnte hierbei auf einer veränderten Organisation des Aktinzytoskeletts basieren. Zusätzlich zu den inhibitorischen Effekten auf die Prostatakontraktion, zeigt Thalidomid auch einen deutlichen Effekt auf die Zellproliferation. Somit ist Thalidomid ein vielversprechender Kandidat für weiterführende Studien in vivo.

4.2 Thalidomid-Derivate als neue medikamentöse Therapieoptionen

Erstmals konnte auch für die Thalidomid-Derivate Lenalidomid und Pomalidomid gezeigt werden, dass sie eine signifikante, konzentrations-abhängige Hemmung der Proliferation von Prostatastromazellen und der glattmuskulären Prostatakontraktion herbeiführen können ⁹⁶.

Lenalidomide and pomalidomide inhibit growth of prostate stromal cells and human prostate smooth muscle contraction.

Tamalunas A, Sauckel C, Ciotkowska A, Rutz B, Wang R, Li B, Ru H, Stief CG, Gratzke C, Hennenberg M.

Life Sci. 2021 Jun 26:119771. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119771. Online ahead of print.

Hemmung der Zellproliferation

Lenalidomid reduzierte die relative Proliferationsrate in WPMY-1-Zellen signifikant (Abb. 14 A und B). Während $78 \pm 2,0$ % der mit DMSO behandelten Kontrollzellen (72 Stunden) eine Proliferation zeigten, war die Proliferationsrate nach Applikation von Lenalidomid auf $51 \pm 2,6$ % bzw. $42 \pm 3,4$ % für 5 μM bzw. 10 μM Lenalidomid reduziert ($p < 0,0001$ und $p < 0,001$ für 5 bzw. 10 μM Lenalidomid vs. Kontrolle, Abb. 14 A). Nach 72-stündiger Inkubation mit höheren Konzentrationen von Lenalidomid (100 und 200 μM) betrug die Proliferationsrate für lösungsmittelbehandelte Zellen $63 \pm 3,5$ %, aber nur noch $36 \pm 2,8$ % und $32 \pm 3,7$ % für Zellen, die 100 μM und 200 μM Lenalidomid ausgesetzt wurden ($p < 0,0001$ für 100 μM bzw. $p < 0,001$ für 200 μM Lenalidomid vs. Kontrolle; Abb. 14 B). Zusammengefasst zeigte sich diese Reduktion konzentrationsabhängig (Abb. 14 A versus Abb. 14 B).

In einer separaten Versuchsreihe untersuchten wir die Wirkung des biologisch aktiveren Thalidomid-Derivats Pomalidomid auf die Proliferation von WPMY-1-Zellen. Hier wurde bei $58 \pm 9,1$ % der mit DMSO behandelten Zellen nach 72 Stunden eine Proliferation beobachtet, während die Proliferationsrate, der mit Pomalidomid (2,5 μM und 5 μM) behandelten Zellen, auf $31 \pm 4,4$ % bzw. $30 \pm 7,7$ % signifikant reduziert war ($p < 0,01$ bzw. $p < 0,02$ für Pomalidomid vs. Kontrolle, Abb. 14 C).

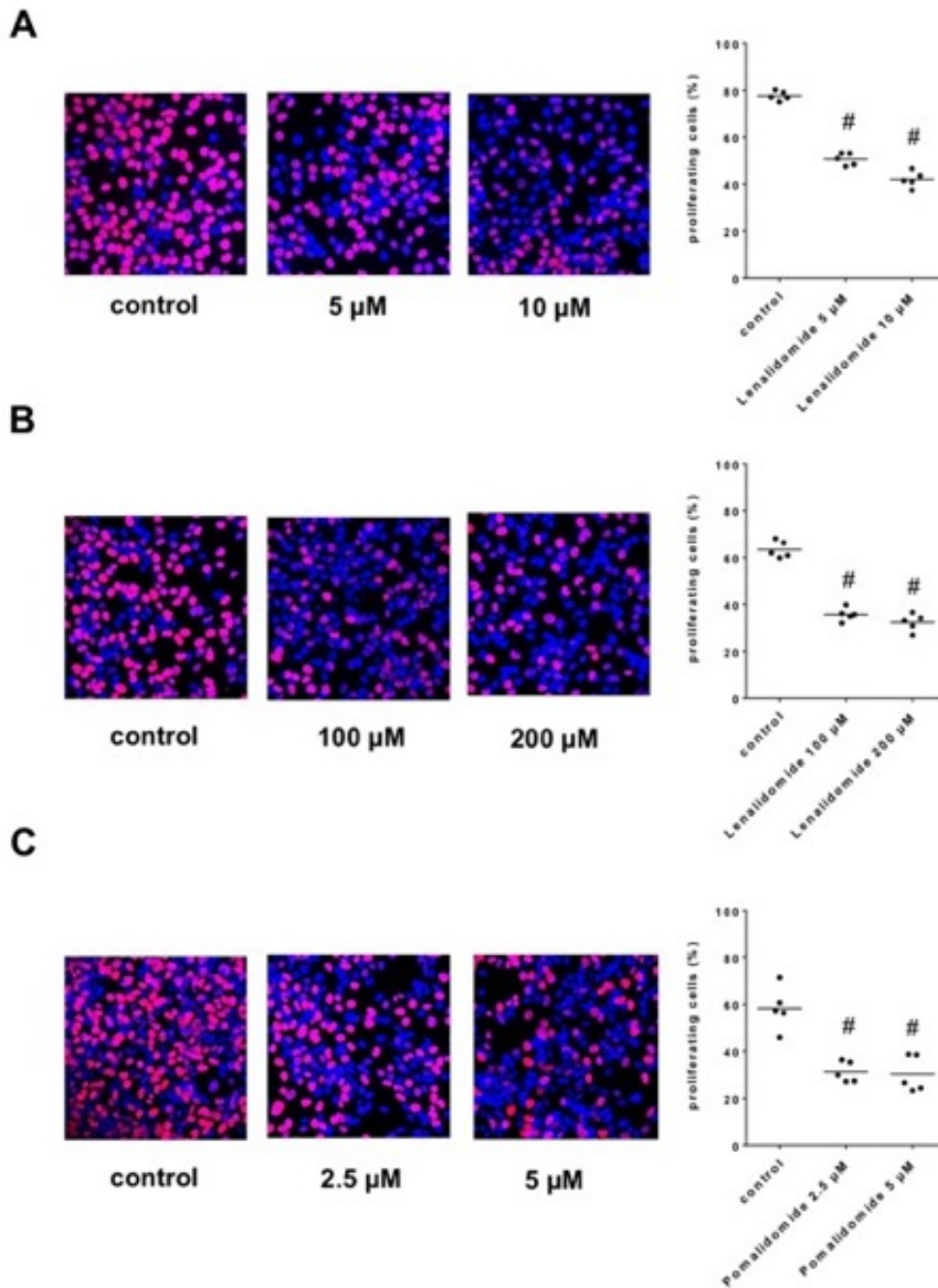


Abb. 14: Hemmung der Prostatastromazellproliferation durch Lenalidomid mit Konzentrationen von 5 µM und 10 µM (A) oder 100 µM und 200 µM (B) und durch Pomalidomid (2,5-5,0 µM) (C). Gezeigt ist der Prozentsatz der Proliferation (Mittelwert ± SD) nach 72 Stunden unter Verwendung von Zellkulturen in n=5 unabhängigen Experimenten für jede Serie. Die Zellen wurden entweder einer Kontroll- (DMSO) oder Lenalidomid- oder Pomalidomid-Gruppe (# p<0,05) zugeordnet und 72 Stunden inkubiert. Proliferierende Zellen wurden durch EdU-Färbung und Gegenfärbung aller Kerne mit DAPI, gefolgt von Fluoreszenzmikroskopie nachgewiesen, was zu blau gefärbten Kernen für nicht-proliferierende Zellen und roten Kernen für proliferierende Zellen führte. Gezeigt sind beispielhafte Bilder der Zellproliferation nach 72 Stunden (links) und die Quantifizierung aller Experimente (rechts).

Hemmung der Aktinpolymerisation

Da die korrekte Polymerisation des Aktinzytoskeletts unbedingte Voraussetzung für die glattmuskuläre Kontraktion ist, untersuchten wir die Auswirkungen von Lenalidomid und Pomalidomid auf die Aktinorganisation in kultivierten WPMY-1-Zellen. Lenalidomid (5-200 μM) und Pomalidomid (2,5 und 5 μM) verursachten jeweils nach 72-stündiger Inkubation eine konzentrations-abhängige Degeneration der Aktinfilamente. Während die Aktinfilamente in den mit Lösungsmittel behandelten Kontrollzellen zu Bündeln mit langen und dünnen Protrusionen angeordnet waren, die sich überlappen, verursachte Lenalidomid eine Regression der Phalloidin-gefärbten Bereiche von $69 \pm 3,2 \%$ bei den Kontrollen auf $40 \pm 6,8 \%$ und $38 \pm 4,3 \%$ für 5 und 10 μM ($p < 0,01$ bzw. $p < 0,001$) (Abb. 15 A). Auch bei Verwendung höherer Konzentrationen von Lenalidomid beobachteten wir eine Regression der Phalloidin-gefärbten Bereiche von $81 \pm 4,8 \%$ in den Kontrollen auf $59 \pm 3,9$ und $53 \pm 1,2 \%$ bei 100 μM und 200 μM ($p < 0,01$ bzw. $p < 0,001$) (Abb. 15 B). Am deutlichsten zeigte sich der Rückgang der adäquaten Aktinfilament-Organisation durch Inkubation mit Pomalidomid in einer Konzentration von 2,5 und 5 μM nach 72 Stunden, was zu einer abgerundeten Zellform ohne jegliche Vorsprünge und zu einer Regression der Phalloidin-gefärbten Bereiche auf $30 \pm 4,7 \%$ bei 2,5 μM ($p < 0,001$) bzw. $26 \pm 1,6 \%$ bei 5 μM ($p < 0,001$) führte, gegenüber den Kontrollen mit $79 \pm 7,9 \%$ (Abb. 15 C).

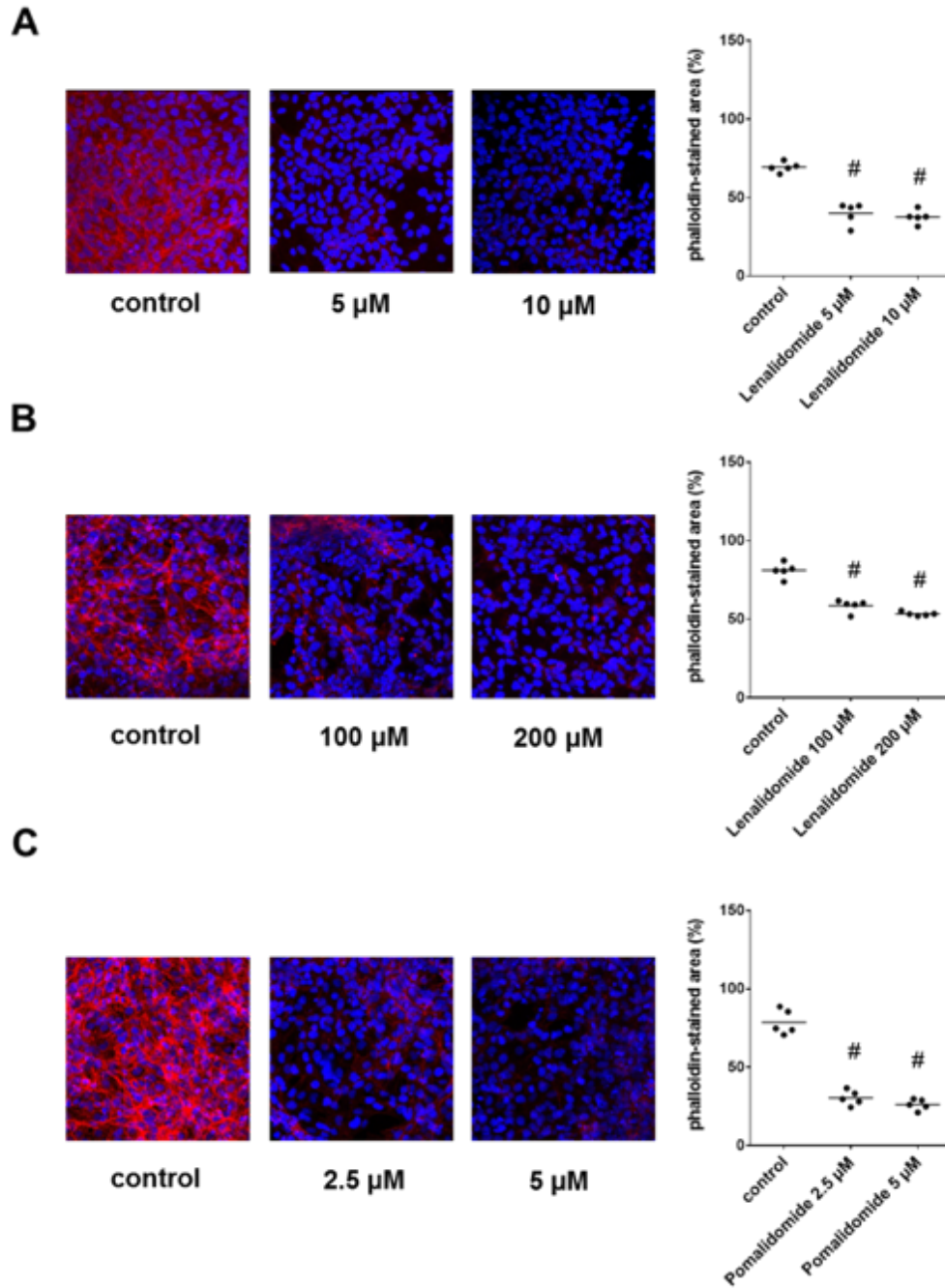


Abb. 15: Hemmung der Aktinorganisation der Prostatastromazellen durch Lenalidomid unter Verwendung von Konzentrationen von 5 μ M und 10 μ M (A) oder 100 μ M und 200 μ M (B) und durch Pomalidomid (2,5-5,0 μ M) (C). Gezeigt sind Aktinfilamente nach 72 Stunden aus einer Serie unter Verwendung von Zellkulturen in n=5 unabhängigen Einzelexperimenten für jedes Panel. Die Zellen wurden entweder einer Kontroll- oder Lenalidomid- oder Pomalidomid-Gruppe zugeordnet und 72 Stunden lang inkubiert. Aktinfilamente wurden durch Phalloidin-Färbung und Fluoreszenzmikroskopie sichtbar gemacht, während die Kerne durch DAPI-Färbung sichtbar gemacht wurden. Gezeigt sind Mittelwerte \pm SD als Prozentsatz (%) der Quantifizierung der Phalloidin-gefärbten Fläche und repräsentative Einzelexperimente aus einer Reihe von n=5 unabhängigen Experimenten für jedes Panel.

Lebensfähigkeit der WPMY-1 Zellen

Nach Exposition gegenüber Lenalidomid und Pomalidomid konnte mit dem CCK-8-Assay keine signifikante Herabsetzung der Lebensfähigkeit von WPMY-1-Zellen nachgewiesen werden. Für jede Konzentration und Zeit wurde eine Reihe von n=5 unabhängigen Experimenten durchgeführt. Die Zellen wurden jeweils mit Lenalidomid oder Pomalidomid für 72 Stunden inkubiert und zeigten keine signifikante Reduktion der Lebensfähigkeit. Nach Lenalidomid-Exposition betrug die Lebensfähigkeit $102 \pm 7,2 \%$ bzw. $97 \pm 5,9 \%$ gegenüber den Kontrollen (DMSO) für 100 bzw. 200 μM (Abb. 16 A). Nach Exposition gegenüber Pomalidomid betrug die Lebensfähigkeit $105 \pm 0,9$, $106 \pm 6,0 \%$ und $103 \pm 4,7 \%$ gegenüber den Kontrollen (DMSO) für 2,5, 5 bzw. 10 μM Pomalidomid (Abb. 16 B).

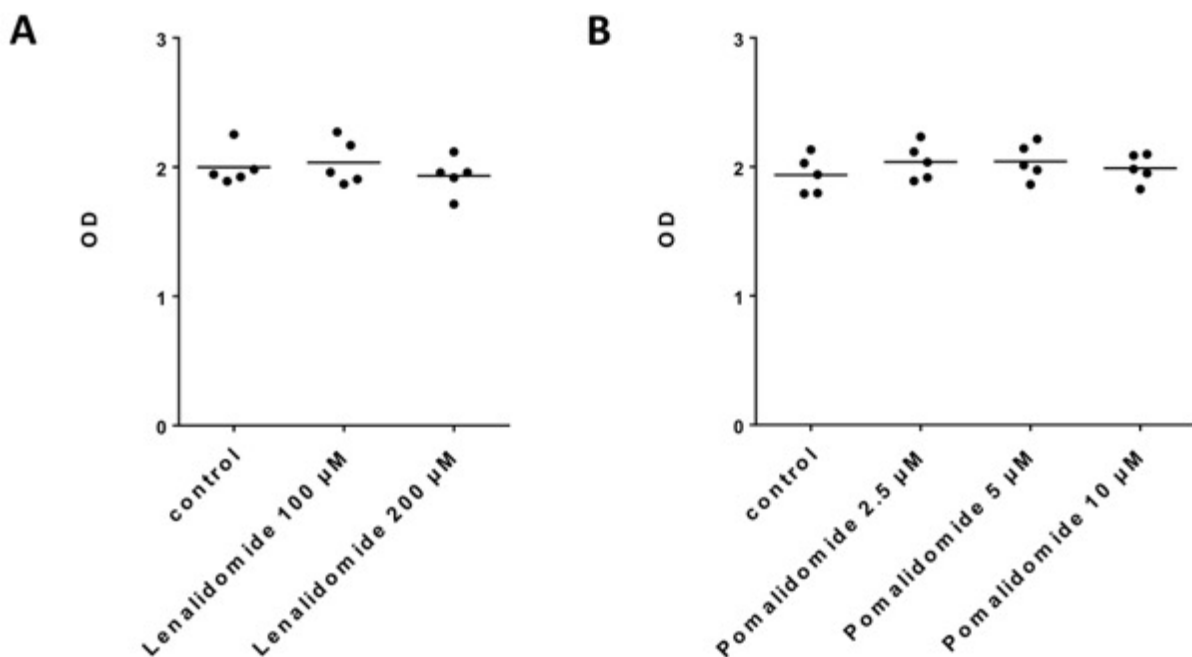


Abb. 16: Lebensfähigkeit der Prostatastromazellen nach Inkubation mit Lenalidomid (A) oder Pomalidomid (B). Gezeigt sind die jeweiligen Mengen an lebensfähigen Prostatastromazellen nach 72 Stunden aus einer Serie mit n=5 unabhängigen Experimenten für jede Substanz. Die Zellen wurden entweder einer Kontroll- oder Lenalidomid- (100-200 μM) oder Pomalidomid- (2,5-10 μM) Gruppe zugeordnet und 72 Stunden inkubiert. Dargestellt ist die Quantifizierung aller Experimente als optische Dichte (OD; Mittelwert \pm SD).

Apoptose und Zelltod in der Durchflusszytometrie

Die Auswirkungen von Lenalidomid (5 μM , 10 μM) und Pomalidomid (2,5 μM , 5 μM) auf Apoptose und Zelltod wurden mittels Durchflusszytometrieanalyse für Annexin V und 7-AAD bewertet, wobei sich Annexin V-positive, 7-AAD-negative Zellen in Apoptose befinden und Annexin V-positive, 7-AAD-positive Zellen tote Zellen darstellen (die entweder aus Apoptose oder Nekrose resultieren können). Bei Verwendung von Lenalidomid in Konzentrationen von 5 μM und 10 μM bzw. Pomalidomid in Konzentrationen von 2,5 und 5 μM wurden keine Auswirkungen auf die Apoptose beobachtet (Abb. 17). Beide Substanzen erhöhten die Zahl der toten Zellen leicht, was jedoch bei Verwendung von 10 μM Lenalidomid oder 2,5 μM oder 5 μM Pomalidomid nicht signifikant war (Abb. 17). Der Anstieg war am höchsten und nur signifikant bei Verwendung von 5 μM Lenalidomid, was die Zahl der toten Zellen auf $23,7 \pm 7,4$ % (Prozentsatz aller Zellen) im Vergleich zur Kontrolle mit $16,4 \pm 6,1$ % in den Kontrollen erhöhte ($p < 0,03$) (Abb. 17).

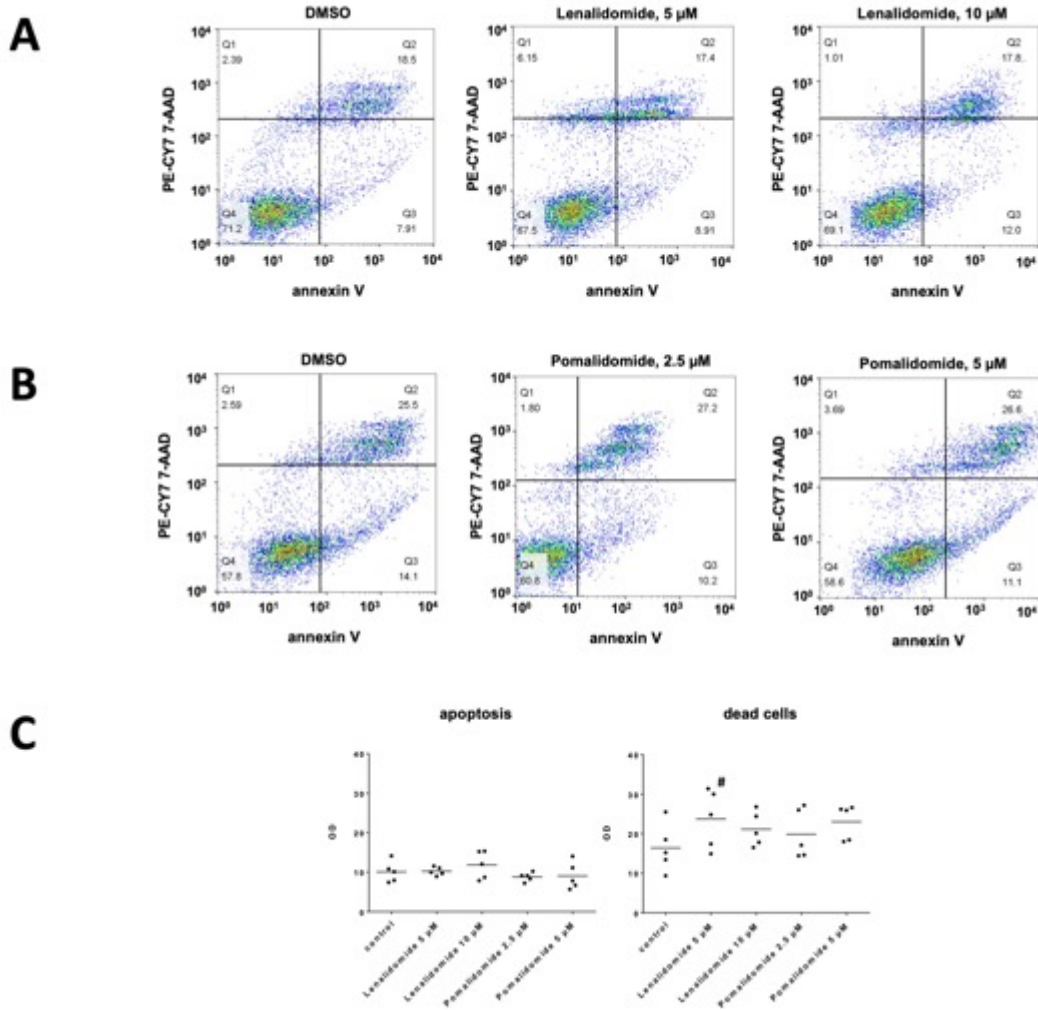


Abb. 17: Apoptose und Zelltod in Prostatastromazellen nach Stimulation mit Lenalidomid (A, C) oder Pomalidomid (B, C). Die Durchflusszytometrie wurde durchgeführt, nachdem die Zellen 72 Stunden lang mit DMSO oder Lenalidomid (5–10 µM) oder Pomalidomid (2,5–5 µM) inkubiert wurden. Anschließend wurde die Anzahl der Zellen in Apoptose (Annexin V-positiv, 7-AAD-negativ) und der toten Zellen (resultierend aus Apoptose und/oder Nekrose; Annexin V-positiv, 7-AAD-positiv) mittels Durchflusszytometrie ausgewertet. Gezeigt sind Mittelwerte ± SD (Prozentsatz der Zellen in Apoptose oder der toten Zellen, bezogen auf die Anzahl aller Zellen) (C) und repräsentative Einzelexperimente (A, B) aus einer Reihe von n=5 unabhängigen Experimenten.

Koloniebildung der WPMY-1 Zellen

Die Fähigkeit von WPMY-1-Zellen zur Koloniebildung wurde durch *Plate Colony Assays* bewertet und durch Lenalidomid signifikant vermindert. Die Koloniebildung betrug $147 \pm 11,0$ in den Kontrollzellen und $94 \pm 9,4$ und $77 \pm 9,5$, was zu einer relativen Koloniezahl von $64 \pm 2,7 \%$ und $53 \pm 3,5 \%$ gegenüber den Kontrollen für 100 µM bzw. 200 µM Lenalidomid führte ($p < 0,001$ für Lenalidomid vs. Kontrolle nach 168 Stunden; Abb. 18 A). Der Rückgang der Koloniebildung war konzentrationsabhängig. Die Hemmung der Zellkoloniebildung war bei

Pomalidomid ähnlich. Wir beobachteten $38 \pm 14,7$ Kolonien für Kontrollzellen und $33 \pm 6,7$ und $20 \pm 3,9$ für Pomalidomid-exponierte Zellen, was zu einer relativen Anzahl von Kolonien von $84 \pm 6,2\%$ und $55 \pm 14,0\%$ gegenüber den Kontrollen für $2,5 \mu\text{M}$ und $5 \mu\text{M}$ Pomalidomid führte ($p < 0,01$ und $p < 0,05$ für $2,5$ bzw. $5 \mu\text{M}$ Pomalidomid vs. Kontrolle nach 168 Stunden; Abb. 18 B).

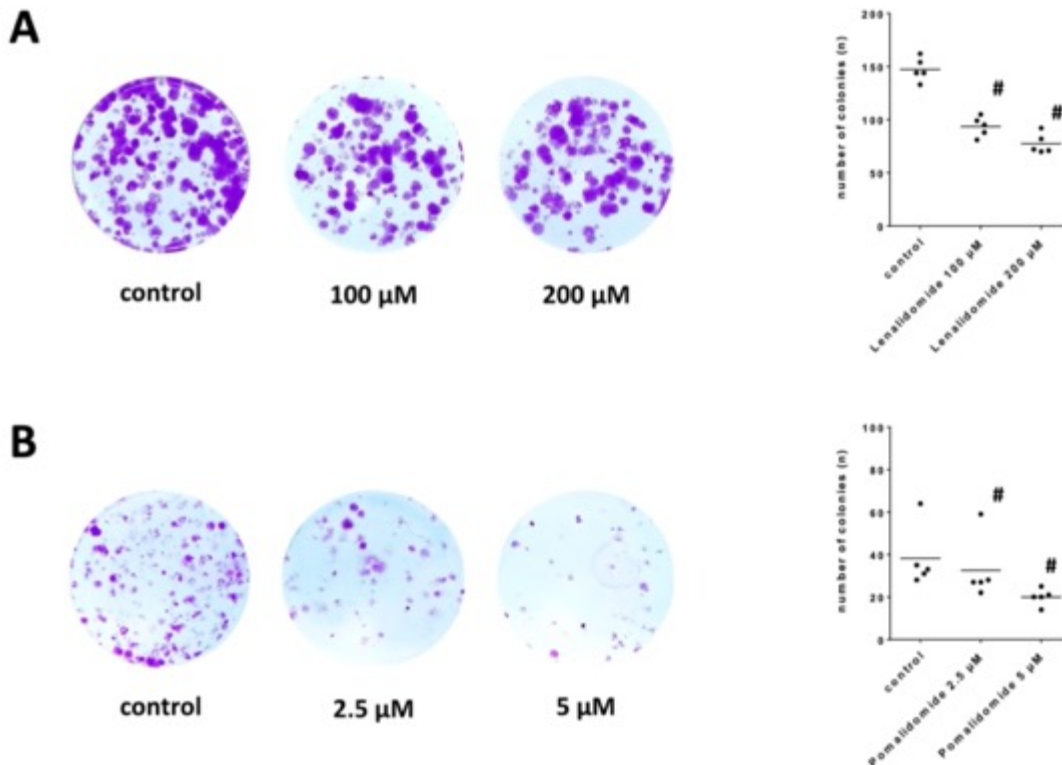


Abb. 18: Hemmung Koloniebildung durch Lenalidomid (A) und Pomalidomid (B) in WPMY-1 Zellen. Gezeigt ist die relative Anzahl von Kolonien nach 168 Stunden (Mittelwert \pm SD) aus einer Serie mit $n=5$ unabhängigen Experimenten. Die Zellen wurden entweder einer Kontroll- oder Lenalidomid- ($100\text{-}200 \mu\text{M}$) oder Pomalidomid- ($2,5\text{-}5 \mu\text{M}$) Gruppe zugeordnet und für 168 Stunden inkubiert (# $p < 0,05$). Gezeigt sind beispielhafte Bilder der Kolonieformation nach 168 Stunden (links) und die Quantifizierung aller Experimente (rechts).

Hemmung der glattmuskulären Prostatakontraktion im Organbad

Hemmung der adrenergen Kontraktion

Die Kontraktion der glatten Muskulatur der menschlichen Prostata wurde durch die adrenergen Agonisten Noradrenalin, Methoxamin und Phenylephrin nach Inkubation mit Lenalidomid ($20 \mu\text{M}$), Pomalidomid ($5 \mu\text{M}$) oder DMSO für Kontrollen induziert. Noradrenalin-

induzierte adrenerge Kontraktionen wurden mit Lenalidomid bei einer Noradrenalin-Konzentration von 100 μM um bis zu $51 \pm 12,7$ % verringert ($p < 0,04$ für Lenalidomid vs. Kontrolle; Abb. 19 A). Die durch Noradrenalin induzierten Kontraktionen wurden mit Pomalidomid um bis zu $73 \pm 21,9$ % verringert ($73 \pm 21,9$ % bei 0,1 μM Noradrenalin, $p < 0,01$; $36 \pm 45,8$ % bei 0,3 μM , $p < 0,03$; $43 \pm 35,8$ % bei 1 μM , $p < 0,04$; $45 \pm 22,5$ % bei 3 μM , $p < 0,02$; $46 \pm 20,7$ % bei 10 μM , $p < 0,02$; $44 \pm 21,1$ % bei 30 μM , $p < 0,03$ für Pomalidomid vs. Kontrolle; Abb. 19 B). Anschließend wurden die Wirkungen von Lenalidomid und Pomalidomid auf Methoxamin- und Phenylephrin-induzierte Kontraktionen untersucht. Methoxamin-induzierte Kontraktionen wurden bis zu $63 \pm 23,8$ % durch Lenalidomid gehemmt ($63 \pm 23,8$ % bei 1 μM Methoxamin, $p < 0,02$; $54 \pm 28,5$ % bei 3 μM , $p < 0,01$; $52 \pm 26,5$ % bei 10 μM , $p < 0,01$; $53 \pm 20,0$ % bei 30 μM , $p < 0,001$; $53 \pm 15,0$ bei 100 μM , $p < 0,001$ für Lenalidomid vs. Kontrolle; Abb. 19 C) und bis zu $60 \pm 22,3$ % durch Pomalidomid ($60 \pm 22,3$ % bei 3 μM Methoxamin, $p < 0,03$, $48 \pm 19,6$ % bei 10 μM , $p < 0,02$, $48 \pm 15,8$ % bei 30 μM , $p < 0,01$, $51 \pm 15,2$ % bei 100 μM , $p < 0,01$ für Pomalidomid vs. Kontrolle, Abb. 19 D). Lenalidomid und Pomalidomid hemmten auch Phenylephrin-induzierte Kontraktionen, und zwar bis zu $33 \pm 23,8$ % durch Lenalidomid bei 3 μM Phenylephrin (Gesamt $p < 0,04$ für Lenalidomid vs. Kontrolle; Abb. 19 E) und bis zu $64 \pm 18,9$ % durch Pomalidomid ($58 \pm 26,2$ % bei 10 μM Phenylephrin, $p < 0,02$; $64 \pm 18,9$ % bei 30 μM , $p < 0,01$; $64 \pm 21,3$ % bei 100 μM , $p < 0,01$ für Pomalidomid vs. Kontrolle; Abb. 19 F).

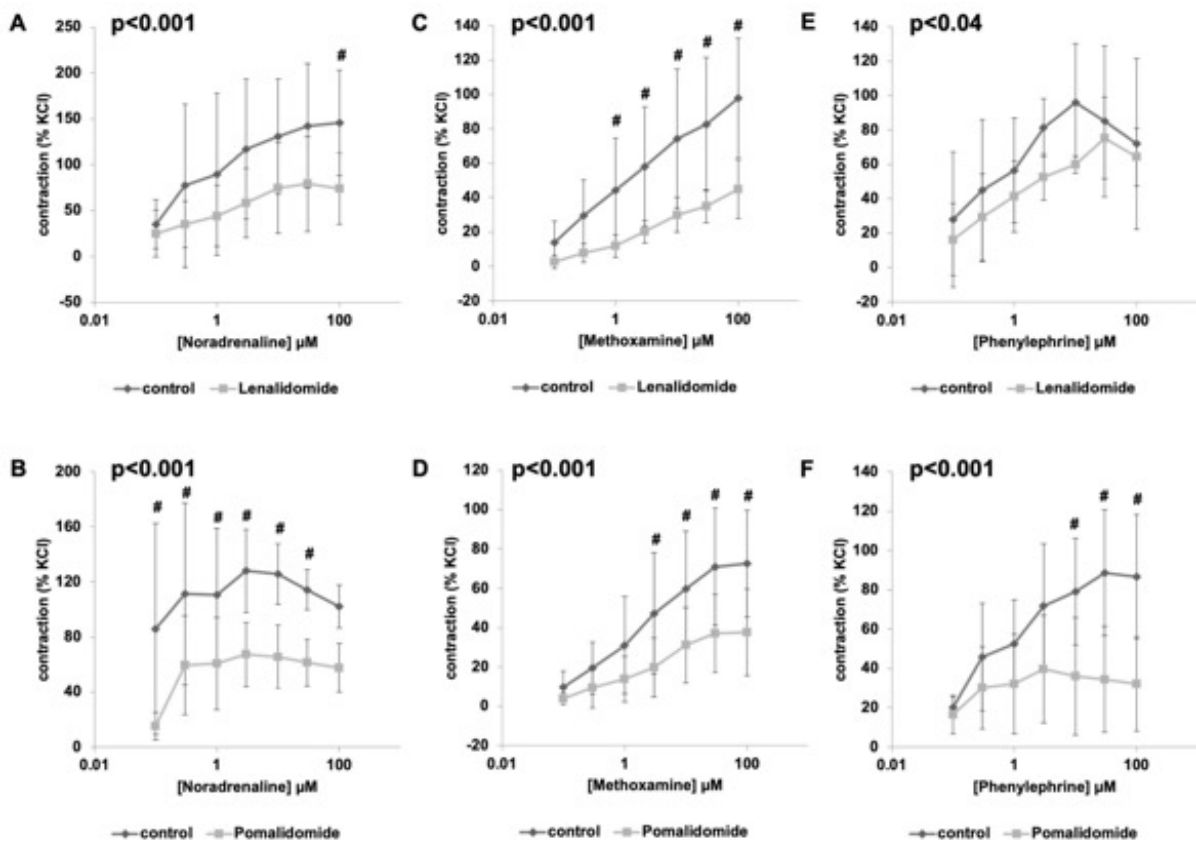


Abb. 19: Wirkungen von Lenalidomid und Pomalidomid auf die adrenergen Kontraktionen des menschlichen Prostatagewebes. Kontraktionen wurden durch die α_1 -Adrenozeptoragonisten Noradrenalin (A und B), Methoxamin (C und D) und Phenylephrin (E und F) nach Zugabe von Lenalidomid (20 μM) oder Pomalidomid (5 μM) oder DMSO für die Kontrollen induziert. Um Heterogenitäten aufgrund individueller Variationen, unterschiedlichen BPH-Grades oder anderen Gehalt an glatter Muskulatur zu eliminieren, wurden Spannungen als Prozentsätze (%) der Kontraktion durch hochmolares KCl ausgedrückt, die vor der Anwendung von Inhibitoren oder DMSO erhoben wurden. Daten sind Mittelwerte \pm SD aus Serien mit Geweben von $n=6$ Patienten für Noradrenalin nach Inkubation mit Lenalidomid (A), $n=5$ Patienten für Noradrenalin nach Inkubation mit Pomalidomid (B), $n=7$ für Methoxamin nach Inkubation mit Lenalidomid (C), $n=6$ Patienten für Methoxamin nach Inkubation mit Pomalidomid (D), $n=5$ für Phenylephrin nach Inkubation mit Lenalidomid (E) und $n=5$ Patienten für Phenylephrin nach Inkubation mit Pomalidomid (F). P-Werte umfassen Werte für jede einzelne Konzentration zwischen beiden entsprechenden Gruppen, die durch Symbole gekennzeichnet sind (# $p < 0,05$ für DMSO vs. Lenalidomid oder DMSO vs. Pomalidomid). Die p-Gesamtwerte spiegeln den Vergleich in der univariaten ANOVA aller Gruppen wider. Proben von jedem einzelnen Patienten wurden beiden Gruppen innerhalb eines Diagramms zugeteilt, sodass beide Gruppen in jedem Diagramm identische Gruppengrößen aufwiesen.

Hemmung der nicht-adrenergen Kontraktion

Lenalidomid und Pomalidomid hemmten nicht-adrenerge Kontraktionen, induziert durch Endothelin-1 und U46619. Endothelin-1 induzierte Kontraktion wurden um bis zu $68 \pm 13,4\%$ durch Lenalidomid gehemmt ($68 \pm 13,4\%$ bei 0,3 μM Endothelin-1, $p < 0,03$; $57 \pm 16,9\%$ bei 1 μM , $p < 0,03$; $50 \pm 15,1\%$ bei 3 μM , $p < 0,01$ für Lenalidomid vs. Kontrolle; Abb. 20 A) und durch Pomalidomid um bis zu $36 \pm 9,4\%$ bei 30 μM Endothelin-1 (overall $p < 0,05$ für Pomalidomid

vs. Kontrolle; Abb. 20 B). U46619-induzierte Kontraktionen wurden um bis zu $95 \pm 12,7\%$ durch Lenalidomide gehemmt ($95 \pm 12,7\%$ bei $3 \mu\text{M}$ U46619, $p < 0,02$; $85 \pm 9,5\%$ bei $10 \mu\text{M}$, $p < 0,001$; $71 \pm 16,7\%$ bei $30 \mu\text{M}$, $p < 0,001$ für Lenalidomid vs. Kontrolle; Abb. 20 C) und um bis zu $43 \pm 31,3\%$ bei $3 \mu\text{M}$ U46619 durch Pomalidomid (overall $p < 0,04$ für Pomalidomid vs. Kontrolle; Abb. 20 D).

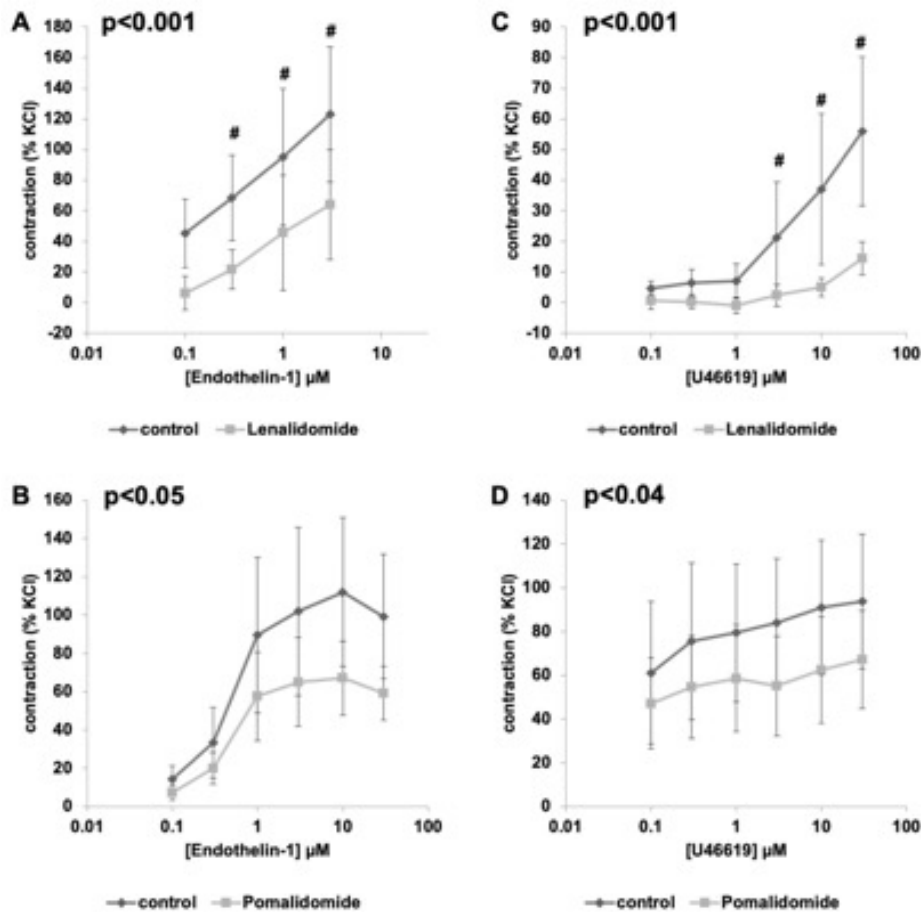


Abb. 20: Auswirkungen von Lenalidomid und Pomalidomid auf die nicht-adrenerge Kontraktion des menschlichen Prostatagewebes. Kontraktionen wurden durch Endothelin-1 (A und B) und das Thromboxan A2-Analogon U46619 (C und D) nach Zugabe von Lenalidomid ($20 \mu\text{M}$) oder Pomalidomid ($5 \mu\text{M}$) oder DMSO für Kontrollen induziert. Um Heterogenitäten aufgrund individueller Variationen, unterschiedlichen BPH-Grades oder anderen variierenden Gehalten an glatter Muskulatur zu eliminieren, wurden Spannungen als Prozentsätze (%) der Kontraktion durch hochmolares KCl ausgedrückt, die vor der Anwendung von Inhibitoren oder DMSO erhoben wurden. Daten sind Mittelwerte \pm SD aus Serien mit Geweben von $n=5$ Patienten für Endothelin-1 nach Inkubation mit Lenalidomid (A), $n=5$ andere Patienten für Endothelin-1 nach Inkubation mit Pomalidomid (B), $n=5$ andere Patienten für U46619 nach Inkubation mit Lenalidomid (C) und $n=5$ anderen Patienten für U46619 nach Inkubation mit Pomalidomid (D). P-Werte umfassen Werte für jede einzelne Konzentration zwischen beiden entsprechenden Gruppen, die durch Symbole gekennzeichnet sind (# $p < 0,05$ für DMSO vs. Lenalidomid oder DMSO vs. Pomalidomid). Die p-Gesamtwerte spiegeln den Vergleich in der univariaten ANOVA aller Gruppen wider. Proben von jedem Patienten wurden beiden Gruppen innerhalb eines Diagramms zugeteilt, sodass beide Gruppen in jedem Diagramm identische Gruppengrößen aufwiesen.

Hemmung der neurogenen Prostatakontraktion

Mit EFS untersuchten wir die Wirkung von Lenalidomid und Pomalidomid auf die neurogene Kontraktion. Wir beobachteten eine signifikante Hemmung um bis zu $84 \pm 13,4$ % durch Lenalidomid ($84 \pm 13,4$ % bei 8 Hz, $p < 0,01$; $76 \pm 11,2$ % bei 16 Hz, $p < 0,001$; $67 \pm 9,8$ % bei 32 Hz, $p < 0,001$ für Lenalidomid vs. Kontrolle, Abb. 21 A) und um bis zu $61 \pm 12,1$ % durch Pomalidomid bei 32 Hz ($p < 0,001$ für Pomalidomid vs. Kontrolle) (Abb. 21 B).

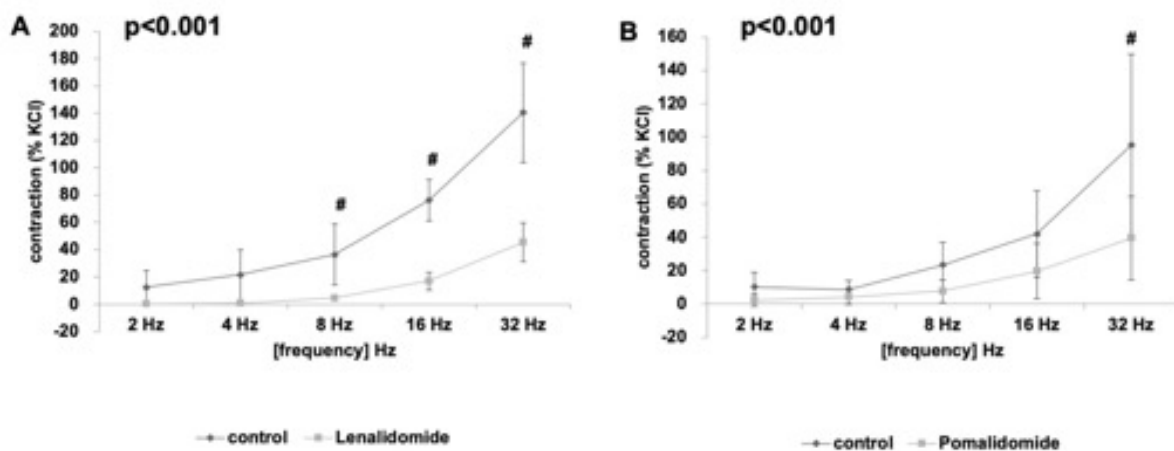


Abb. 21: Auswirkungen von Lenalidomid und Pomalidomid auf die EFS-induzierte neurogene Kontraktion des menschlichen Prostatagewebes. Kontraktionen wurden durch elektrische Feldstimulation (EFS) nach Zugabe von Lenalidomid (20 µM) oder Pomalidomid (5 µM) oder DMSO für die Kontrollen induziert. Um Heterogenitäten aufgrund individueller Variationen, unterschiedlichen BPH-Grades oder variierenden Gehalten an glatter Muskulatur zu eliminieren, wurden Spannungen als Prozentsätze (%) der Kontraktion durch hochmolares KCl ausgedrückt, die vor der Anwendung von Inhibitoren oder DMSO erhoben wurden. Daten sind Mittelwerte \pm SD aus Serien mit Geweben von $n=5$ Patienten für EFS (Frequenzen 2-32 Hz) nach Inkubation mit 20 µM Lenalidomid (A) und $n=5$ anderen Patienten für EFS (Frequenzen 2-32 Hz) nach Inkubation mit 5 µM Pomalidomid (B). P-Werte umfassen Werte für jede einzelne Konzentration zwischen beiden entsprechenden Gruppen, die durch Symbole gekennzeichnet sind (# $p < 0,05$ für DMSO vs. Lenalidomid oder DMSO vs. Pomalidomid). Die p-Gesamtwerte spiegeln den Vergleich in der univariaten ANOVA aller Gruppen wider. Proben von jedem Patienten wurden beiden Gruppen innerhalb eines Diagramms zugeteilt, sodass beide Gruppen in jedem Diagramm identische Gruppengrößen aufwiesen.

Wie bereits in den Vorarbeiten des Habilitanden zu Thalidomid gezeigt werden konnte, setzen die Thalidomid-Abkömmlinge, Lenalidomid und Pomalidomid, die adrenerge wie auch die nicht-adrenerge Prostatakontraktion signifikant herab⁹⁷. Zusätzlich ist eine relevante Hemmung der Zellproliferation zu beobachten gewesen, ohne dass dabei zytotoxische Effekte auftraten oder die Lebensfähigkeit der benignen Prostatazellen (WPMY-1 Zellen) relevant herabgesetzt wurde.

4.3 Der Einfluss von α_1 -Blockern und 5 α -Reduktase-Inhibitoren auf die funktionellen Ergebnisse der HoLEP

Diese Fragestellung ist eine Synthese der beiden grundlagenwissenschaftlichen Hauptprojekte zur medikamentösen Therapie des BPS, in der vor allem der Effekt präoperativer LUTS-Medikamente auf die prä- und postoperativen urodynamischen Ergebnisse untersucht werden sollte. Die Hypothese, dass sich eine längere konservative Therapie negativ auf die postoperativen funktionellen Ergebnisse auswirkt konnte in dieser Studie mit 1052 Patienten widerlegt werden.

The impact of preoperative LUTS medication on the functional performance of holmium laser enucleation of the prostate.

Tamalunas A, Westofen T, Schott M, Keller P, Atzler M, Stief CG, Magistro G.

Cent European J Urol. 2021. In press

Bis zu 49 % der Patienten, die sich einer endourologischen Prostatadesobstruktion unterziehen, haben ein Jahr vor dem chirurgischen Eingriff LUTS-Medikamente eingenommen⁶⁹. In diesem Projekt untersuchten wir deshalb den Einfluss der am häufigsten verordneten LUTS-Medikamente (5-ARI und α -Blockern) auf das präoperative LUTS-Profil, die perioperative Morbidität und die postoperativen funktionellen Ergebnisse. Wir konnten zeigen, dass 34,1 % unserer Patienten (360/1057) zum Zeitpunkt der Operation eine aktive Behandlung mit LUTS-Medikamenten erhielten. Eingeschlossen wurden Patienten, die eine aktive Behandlung mit α_1 -Blockern für mindestens 4 Wochen und/oder 5-ARI für mindestens 3 Monate vor HoLEP bekamen.

Die Patienten wurden in drei Gruppen stratifiziert (Tab. 1). Gruppe 1 umfasste Patienten, die keine LUTS-Medikation erhielten (n=697), Gruppe 2 umfasste Patienten, die nur α_1 -Blocker erhielten (n=224) und Gruppe 3 umfasste nur Patienten, die eine Kombination aus α_1 -Blockern und 5-ARI bekamen (n=136).

	Gruppe 1 (keine Medikation) n=697	Gruppe 2 (α_1-Blocker) n=224	Gruppe 3 (α_1-Blocker + 5-ARI) n=136
Tamsulosin	0	196 (87,5 %)	121 (88,9 %)
Alfuzosin	0	21 (9,4 %)	10 (7,4 %)
Silodosin	0	7 (3,1 %)	5 (3,7 %)
Finasterid	0	0	114 (83,8 %)
Dutasterid*	0	0	22 (16,2 %)

Tab. 1: Präoperative LUTS-Medikamente. Medikamente wurden in der Standarddosierung und in Einklang mit den aktuellen EAU Leitlinien verordnet. Tamsulosin 0,4 mg; Alfuzosin 5 mg; Silodosin 4 mg; Finasterid 5 mg; Dutasterid 0,5 mg; *meist als Kombipräparat Duodart® = Dutasterid 0,5 mg + Tamsulosin 0,4 mg

Während sich unsere Patientenkohorten weder im Alter, BMI noch Q_{max} unterschieden, zeigte sich jedoch im LUTS-Profil und im ASA-Score ein signifikanter Unterschied (Tab. 2). Patienten, die sowohl α_1 -Blocker als auch 5-ARI erhielten, zeigten einen signifikant niedrigeren präoperativen IPSS von 17 Punkten gegenüber 19 Punkten bei Patienten ohne vorherige LUTS-Medikation ($p < 0,02$). Dies kann die Wirksamkeit von LUTS-Medikamenten widerspiegeln, zeigt gleichzeitig aber auch die Grenzen aktueller Medikamente. Mit lediglich 2 Punkten Unterschied im IPSS zwischen den Gruppen zeigt sich hier ein hoher Anteil an Patienten, deren Beschwerden ein chirurgisches Eingreifen zur Behebung der medikamentenresistenten LUTS erfordert. Frühere Studien haben gezeigt, dass eine Abnahme des IPSS von ≥ 3 erreicht werden muss, damit LUTS/BPS-Medikamente als wirksam und vom Patienten als zufriedenstellend angesehen werden ⁹⁸. Zur Bestätigung dieser Hypothese beobachteten wir in unserer Patientenkohorte einen unbefriedigenden QoL-Score von 4 Punkten ohne Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,609$) sowie einen klinisch relevanten und ebenso unbefriedigende mediane Restharmengen von 80, 90 und 80 ml für die Gruppen 1-3 ($p = 0,986$). Wie erwartet, beobachteten wir bei Patienten, die mit 5-ARI und α_1 -Blockern in Gruppe 3 behandelt wurden, einen signifikant niedrigeren medianen PSA-Wert mit 4,1 ng/ml gegenüber 5,8 ng/ml in den Gruppen 1 und 2 mit $p < 0,001$ bzw. $p < 0,01$. Gleichzeitig zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Prostatavolumen ($p = 0,815$), was zu einer signifikant unterschiedlichen medianen PSA-Dichte zwischen Gruppe 3 mit 0,05 ng/ml/cc gegenüber den Gruppen 1 und 2

mit 0,07 und 0,06 mit $p < 0,001$ bzw. $p < 0,01$ führte. Dies zeigt, dass der mediane Gesamt-PSA nicht allein auf die Prostatagröße zurückzuführen ist, sondern Ausdruck des Einsatzes von 5-ARI in Gruppe 3 ist. Damit bestätigen unsere Ergebnisse die Befunde von Naslund et al., die eine PSA-Abnahme von bis zu 50 % während der Anwendung von 5-ARI zeigen konnten⁹⁹. Darüber hinaus kann das Prostatavolumen ein Prädiktor für LUTS sein, jedoch korreliert das Prostatavolumen allein korreliert nicht mit dem Schweregrad des BPS⁶².

	Gruppe 1 (keine Medikation) n=697	Gruppe 2 (α_1-Blocker) n=224	Gruppe 3 (α_1-Blocker + 5-ARI) n=136	p-Werte
Alter (Jahre)				
Median	72	71	73	0,458
IQR	66 - 76	65 - 76	67 - 76	
BMI				
Median	25,8	26,1	25,9	0,598
IQR	24,0 - 28,0	24,3 - 28,4	23,8 - 28,4	
IPSS				
Median	19	19	17	<0,02
IQR	15 - 24	13 - 24	13 - 23	
QoL				
Median	4	4	4	0,609
IQR	3 - 5	3 - 5	3 - 5	
Q_{max} (ml/s)				
Median	11,0	10,5	11,0	0,524
IQR	8,5 - 15,0	8,0 - 14,3	8,0 - 15,0	
PVR (ml)				
Median	80	90	80	0,986
IQR	38 - 165	35 - 170	34 - 175	
Hb (g/dl)				
Median	14,6	14,8	14,9	0,116
IQR	13,7 - 15,5	13,9 - 15,5	14,2 - 15,6	
PSA (ng/ml)				
Median	5,8*	5,8**	4,1	*<0,001
IQR	3,4 - 10,9	3,4 - 8,9	2,4 - 6,7	**<0,01
PSA Dichte (ng/ml/cc)				
Median	0,07*	0,06**	0,05	*<0,001
IQR	0,04 - 0,12	0,04 - 0,10	0,03 - 0,08	**<0,01
Prostatagröße (cc)				
Median	85	80	83	0,815
IQR	65 - 110	65 - 109	69 - 106	
ASA score				
≥III vs <III (%)	35,9 % (297)	27,7 % (62)	27,3 % (36)	<0,03
DK (%)	39,0 % (194)	22,4 % (50)	22,8 % (31)	<0,001

Tab. 2: Präoperative und demographische Daten. IQR (*interquartile range*, Interquartilenabstand), BMI (*body mass index*), IPSS (*international prostate symptom score*), QoL (*quality of life*, Lebensqualität), Q_{\max} (maximale Harnflussrate), PVR (*post void residual*, Restharn), Hb (Hämoglobin), PSA (Prostata-spezifisches Antigen), ASA (*American Society of Anesthesiologists*), DK (Harnblasendauerkatheter). Fett geschriebene p-Werte zeigen statistisch signifikante Zusammenhänge an ($p < 0,05$).

Alle Patienten in unserer Studienkohorte zeigten eine signifikante Verbesserung der funktionellen Ergebnisse nach HoLEP (Tab. 3). Die Patienten der Gruppe 1 zeigten die größte mediane Verbesserung des postoperativen IPSS mit 9 gegenüber 8 bzw. 7 Punkten für die Gruppen 2 bzw. 3. Obwohl statistisch nicht signifikant, zeigten die Patienten in Gruppe 3 im Vergleich zu den anderen Gruppen eine weniger ausgeprägte Verbesserung des Q_{\max} von 9,5 ml/s. LUTS/BPO ist eine multifaktorielle Erkrankung, bei der LUTS aus einer Kombination von obstruktiven Miktionsymptomen aufgrund eines erhöhten Tonus der glatten Prostata und des Prostatawachstums entstehen^{20,61}.

Während der Tonus der glatten Prostatamuskulatur durch α_1 -Blocker herabgesetzt wird, ist die Progression der Prostatagröße chronisch und kann in einem späteren Stadium von LUTS/BPO dominanter werden. Patienten in Gruppe 3 litten möglicherweise über einen längeren Zeitraum unter LUTS/BPO, und eine geringere Verbesserung von Q_{\max} kann auf eine erhöhte Prävalenz von Detrusorunteraktivität zurückzuführen sein, im Gegensatz zu einer Abnahme der Blasen Ausgangsobstruktion und kann daher den weniger ausgeprägten Effekt bei Patienten in Gruppe 3 erklären^{100,101}. Wie wir in einer Patientenkohorte im Alter von 80 Jahren bereits vermuteten, könnte die leichte anfängliche Verbesserung von Q_{\max} und IPSS in Gruppe 3 auf eine verlängerte Erholung des Detrusors der Patienten als Folge einer längeren medizinischen Behandlung zurückzuführen sein¹⁰¹.

Variablen	Gruppe 1 (keine Medikation) n=697	Gruppe 2 (α_1 -Blocker) n=224	Gruppe 3 (α_1 -Blocker + 5-ARI) n=136	p-Werte
Enukleationszeit (min)				
Median	37	34	37	0,436
IQR	28 - 55	26 - 47	30 - 43	
OP- Geschwindigkeit (g/min)				
Median	1,54	1,54	1,65	0,595
IQR	1,01 - 2,23	1,08 - 2,28	1,22 - 2,38	
Gewebe (g)				
Median	65	60	65	0,084
IQR	45 - 88	43 - 80	50 - 86	
Katheter (Tage)				
Median	2,0	2,0	2,0	0,143
IQR	2,0 - 3,0	2,0 - 2,0	2,0 - 2,3	
Liegedauer (Tage)				
Median	3,0	3,0	3,0	0,509
IQR	3,0 - 4,0	3,0 - 4,0	3,0 - 4,0	
Δ Hb (g/dl)				
Median	0,7	1,3	1,5	<0,001
IQR	0,0 - 1,7	0,6 - 2,1	0,7 - 2,3	
Δ IPSS				
Median	9	8	7	0,481
IQR	3 - 15	2 - 15	0 - 16	
Δ QoL				
Median	3	2	3	0,529
IQR	1 - 4	1 - 4	1 - 3	
Δ Q_{max} (ml/s)				
Median	10	12	9,5	0,385
IQR	5 - 20	7 - 21	4 - 18	
Δ PVR (ml)				
Median	50	68	67	0,061
IQR	0 - 130	6 - 150	8 - 160	

Tab. 3: Perioperative Daten und klinische Befunde 4 Wochen nach HoLEP. IQR (*interquartile range*, Interquartilenabstand), IPSS (*international prostate symptom score*), QoL (*quality of life*, Lebensqualität), Q_{max} (maximale Harnflussrate), PVR (*post void residual*, Restharn), Hb (Hämoglobin). Fett geschriebene p-Werte zeigen statistisch signifikante Zusammenhänge an ($p < 0,05$).

Zudem ist das Sicherheitsprofil der HoLEP vergleichbar mit anderen in aus unserer Arbeitsgruppe durchgeführten Studien^{101,102}. Darüber hinaus konnten wir einen statistischen Unterschied im postoperativen Hämoglobinabfall mit 0,7 g/dl in Gruppe 1 gegenüber 1,3 g/dl und 1,5 g/dl in den Gruppen 2 bzw. 3 ($p < 0,001$) beobachten. Perioperative Bluttransfusionen

waren jedoch in der Gesamtkohorte nicht erforderlich. In einer kürzlich durchgeführten prospektiven randomisierten placebokontrollierten Studie konnten Bansal et al. zeigen, dass eine kurzfristige präoperative Behandlung mit 5-ARI die perioperative Blutung und den Bedarf an Bluttransfusionen bei Patienten, die sich einer TURP wegen LUTS/BPO unterziehen, signifikant reduziert. Sie schlugen sogar eine 4-wöchige Vorbehandlung mit 5-ARI für TURP vor, um die Prostata-Mikrogefäßdichte (*mean vessel density*, MVD) zu verringern¹⁰³. Der mögliche protektive Effekt von 5-ARI, den Blutverlust während der TURP oder HoLEP zu verringern, bleibt jedoch umstritten¹⁰⁴. Auch wenn eine Reduktion der MVD durch Finasterid denkbar erscheint, können wir den von Bansal et al. Beschriebenen protektiven Effekt der präoperativen 5-ARI-Anwendung auf den perioperativen Blutverlust nicht bestätigen^{103,104}.

Adverse Events (AEs)	Gruppe 1 (keine Medikation) n=697	Gruppe 2 (α-blocker) n=224	Gruppe 3 (α-blocker + 5-ARI) n=136	p-Werte
Alle AEs; N (%)	34 (4,9 %)	19 (8,5 %)	6 (8,9 %)	0,943
Clavien Dindo I	12 (1,7 %)	6 (2,7 %)	6 (6,3 %)	
Clavien Dindo II	3 (0,4 %)	1 (0,4 %)	0 (0,3 %)	
Clavien Dindo III	14 (2,0 %)	10 (4,5 %)	7 (4,5 %)	
Clavien Dindo IV	4 (0,6 %)	2 (0,9 %)	1 (1,8 %)	
CDC \geqII vs <II	21 (3,0 %)	13 (4,2 %)	8 (6,3 %)	0,930

Tab. 4: Perioperative Komplikationen nach Clavien-Dindo. Perioperative Komplikationen bis 30 Tage nach HoLEP umfassten Makrohämaturie, mit prolongierter Harnblasenspülung oder chirurgischer Koagulation, Harnblasentamponade, Aspirationspneumonie, Sepsis, Myokardinfarkt. Fett geschriebene p-Werte zeigen statistisch signifikante Zusammenhänge an ($p < 0,05$).

Unabhängig von präoperativen LUTS-Medikamenten ist die HoLEP ein sicheres Verfahren (Tab. 4), welches einer Vielzahl an Patienten angeboten werden kann. Darüber hinaus haben sich die postoperativen Funktionsparameter in allen unseren Patientenkohorten verbessert, obgleich ein geringerer zeitlicher Abstand zwischen medikamentöser Therapie und chirurgischer Intervention ein besseres funktionelles Ansprechen begünstigen könnte.

4.4 Einsatz und Effektivität der HoLEP bei Patienten ≥ 80 Jahre

Zusammen mit der steigenden Lebenserwartung in den westlichen Industrienationen, nimmt der Anteil medikamentenrefraktärer BPS-Patienten im fortgeschrittenen Lebensalter deutlich zu. Gerade diese vulnerable Patientengruppe stellt eine besondere Herausforderung im Management des BPS dar. Vor dem Hintergrund dieser Fragestellung wurde die Effektivität der HoLEP insbesondere an der ältesten Population untersucht ¹⁰¹.

The clinical value of holmium laser enucleation of the prostate in octogenarians.

Tamalunas A, Westhofen T, Schott M, Keller P, Stief CG, Magistro, G.

Low Urin Tract Symptoms. 2020 Dec 1. doi: 10.1111/luts.12366. Online ahead of print.

Hierfür teilten wir die Patienten in drei Gruppen ein: Gruppe 1 (<70 Jahren; n=208), Gruppe 2 (70-79 Jahre; n=164) und Gruppe 3 (≥ 80 Jahre; n=115). Während gerade die ältesten Patienten (≥ 80 Jahre) oftmals multiple Komorbiditäten aufweisen, zeigten sich in unserer Untersuchung homogene Patientenkohorten (Tab. 5). Wir konnten nur Unterschiede im präoperativen American Society of Anaesthesiologists (ASA) score $\geq III$ und dem präoperativen Hämoglobinwert in Gruppe 3 feststellen. Ältere Patienten weisen oftmals eine Anämie auf. Kürzlich konnten Steinmeyer et al zeigen, dass dies bei über 20 % der über 80-jährigen Patienten der Fall ist, und ein erhöhter ASA score auch Ausdruck der erhöhten Vulnerabilität dieser Patientengruppe sein kann ^{63,105,106}.

	Gruppe 1 (<70) (n=208)	Gruppe 2 (70-79) (n=164)	Gruppe 3 (≥80) (n=115)	p-Werte
Alter (Jahre)				
Median	64	74	82	<0,001
IQR	59 - 67	72 - 76	80 - 85	
BMI				
Median	25,6	25	25,3	0,696
IQR	24 - 27,7	23 - 27	22,6 - 26,4	
IPSS				
Median	20	18	18	0,130
IQR	15 - 25	14 - 23	14 - 25,8	
QoL				
Median	4	4	4	0,998
IQR	3 - 5	3 - 5	4 - 5	
Qmax (ml/s)				
Median	10	10	9,5	0,664
IQR	7,5 - 14	7 - 13,8	7,3 - 12	
PVR (ml)				
Median	90	77	105	0,570
IQR	40 - 160	20 - 180	40 - 175	
Hb (g/dl)				
Median	15*	14,6**	13,7	*<0,001
IQR	14,2 - 15,8	13,7 - 15,2	12,6 - 14,4	**<0,03
PSA (ng/ml)				
Median	6	6,2	5,1	0,821
IQR	3,2 - 12,4	3 - 11,6	3,2 - 11,3	
PSA Dichte (ng/ml/cc)				
Median	0,08	0,07	0,07	0,139
IQR	0,05 - 0,14	0,04 - 0,12	0,04 - 0,11	
Prostatagröße (cc)				
Median	75,5	85	90	0,124
IQR	60 - 100	60 - 120	60 - 115	
ASA score ≥III vs <III				
(%)	24,9 % (51)	28,7 % (46)	65,2 % (75)	<0,001
IDC				
(%)	33,5 % (69)	33,5 % (55)	47,8 % (55)	0,372

Tab. 5: Präoperative und demographische Daten. IQR (*interquartile range*, Interquartilenabstand), BMI (*body mass index*), IPSS (*international prostate symptom score*), QoL (*quality of life*, Lebensqualität), Q_{max} (maximale Harnflussrate), PVR (*post void residual*, Restharn), Hb (Hämoglobin), PSA (Prostata-spezifisches Antigen), ASA (*American Society of Anesthesiologists*), DK (Harnblasendauerkatheter). Fett geschriebene p-Werte zeigen statistisch signifikante Zusammenhänge an (p<0,05).

Mit dem Alter nimmt gemeinhin auch der Gebrauch von Antikoagulanzen zu. Allein die Empfehlung der *European Society of Cardiology* (ESC) Acetylsalicylsäure (ASS) 100 mg einmal täglich zur Primärprävention kardiovaskulärer Ereignisse ab einem Alter von 60 Jahren zu verabreichen sowie der Vormarsch neuer oraler Antikoagulanzen (NOAK), stellen eine

Herausforderung bei Operationen an älteren Patienten dar. Tabelle 6 gibt einen Überblick zur Anwendung von Aspirin (ASS® 100 mg), Clopidogrel (P2Y12-Hemmer), neuen oralen Antikoagulanzen (NOAK; Apixaban, Rivaroxaban; Faktor-Xa-Hemmer) und Marcumar in den einzelnen Altersgruppen. ASS 100 mg wurde in keinem Fall abgesetzt. Clopidogrel und NOAKs wurden entsprechend ihrer jeweiligen Medikamentenhalbwertszeit abgesetzt: Clopidogrel wurde 7-10 Tage vor HoLEP abgesetzt und NOAKs wurden 48-72 Stunden vor HoLEP abgesetzt. Ein perioperatives Heparin-bridging wurde bei Marcumarpatienten mit niedermolekularem Heparin (LMWH) durchgeführt. Zwischen allen Gruppen konnte kein statistischer Unterschied in der Verwendung von blutverdünnenden Medikamenten festgestellt werden, jedoch konnte ein Trend für Gruppe 3 (25; 21,7 %) gegenüber Gruppe 1 (19; 9,1 %) und 2 (22; 13,4 %) für die Einnahme von ASS 100 mg festgestellt werden (p=0,09).

	Gruppe 1 (<70) (n=208)	Gruppe 2 (70-79) (n=164)	Gruppe 3 (≥80) (n=115)
ASS (100 mg) [†]	19 (9.1 %)	22 (13.4 %)	25 (21.7 %)
Clopidogrel [‡]	7 (3.4 %)	0	5 (4.3 %)
NOAK [‡]	2 (1.0 %)	5 (3.0 %)	5 (4.3 %)
Marcumar [§]	1 (0.5 %)	3 (0.6 %)	5 (4.3 %)
Heparin bridging [§]	1 (0.5 %)	3 (1.8 %)	5 (4.3 %)

Tab. 6: Antikoagulanzengebrauch in den Patientenkohorten. ASS = Acetylsalicylsäure; NOAK = neue orale Antikoagulanzen; † Medikation wurde nicht pausiert; ‡ abhängig von der jeweiligen Halbwertszeit wurde die Medikation perioperativ pausiert; § Heparin bridging wurde nur bei Patienten durchgeführt, die ihre Antikoagulation mit Marcumar nicht pausieren konnten, hierfür wurde niedermolekulares Heparin (*low molecular weight heparin*; LMWH) verwendet.

Alle Patienten wiesen eine signifikante Verbesserung ihrer urodynamischen Parameter nach HoLEP auf (Tab. 7). Der deutlichste Effekt in der Verbesserung des International Prostate Symptom Score (IPSS) und des maximalen Harnflusses (Q_{max}) zeigte sich bei den jüngeren Patienten in Gruppe 1. Obwohl es keine eindeutige Assoziation zwischen dem Alter des

Patienten und den funktionellen Ergebnissen nach HoLEP gibt, mag dem verminderten Effekt in der Gruppe der ältesten Patienten die Dauer der Erkrankung zugrunde liegen. Die Prävalenz einer Detrusor-Unteraktivität (DU) nimmt mit dem Alter zu und steht dabei im Kontrast zu einer altersabhängigen Abnahme der BOO, was wiederum den weniger ausgeprägten Effekt auf die älteste Patientenkohorte erklären kann^{100,107,108}. Da die Erkrankung chronisch mit dem Alter voranschreitet, leiden die ältesten Patienten meistens bereits über einen längeren Zeitraum an LUTS/BPO und der Harnblasen-Detrusor benötigt länger zur *Restitutio ad integrum*. Die zu einem früheren Zeitpunkt potenziell mit besseren funktionellen Ergebnissen einhergehende operative Desobstruktion wird bei diesen Patienten häufig aufgrund diverser Komorbiditäten verschoben.

	Gruppe 1 (<70) (n=208)	Gruppe 2 (70-79) (n=164)	Gruppe 3 (≥80) (n=115)	p-Werte
OP Zeit (min)				
Median	75	87,5	93	0,909
IQR	58 - 109	66,8 - 118	57 - 116	
Gewebe (g)				
Median	55*	62,5**	78	*<0,020
IQR	40 - 77,8	42 - 87,5	55 - 105	**0,182
Gewebe (%)				
Median	73,2	73,3	81,3	<0,001
IQR	65,5 - 80	62,5 - 81	77,8 - 100	
Δ IPSS				
Median	14	10	8	<0,001
IQR	7 - 17,5	4 - 16	0 - 17,8	
Δ QoL				
Median	3	3	3	0,630
IQR	2 - 4	2 - 4	1,8 - 4	
Δ Q_{max} (ml/s)				
Median	14,5	10,5	13	0,467
IQR	9 - 26	5 - 16	8,5 - 17	
Δ PVR (ml)				
Median	80	63,5	100	0,566
IQR	30 - 155,5	15,5 - 157,5	40 - 165	
Δ Hb (g/dl)				
Median	1,0	1,0	1,0	0,505
IQR	0,5 - 1,7	0,5 - 1,8	0,7 - 2,2	
Katheter (Tage)				
Median	2,0	2,0	2,0	
IQR	2,0 - 2,0	2,0 - 2,0	1,5 - 2,5	0,467
Liegedauer (Tage)				
Median	3,0	3,0	3,0	
IQR	3,0 - 3,0	3,0 - 3,0	2,5 - 3,5	0,467

Tab. 7: Perioperative Daten und klinische Befunde 4 Wochen nach HoLEP. IQR (*interquartile range*, Interquartilenabstand), IPSS (*international prostate symptom score*), QoL (*quality of life*, Lebensqualität), Q_{max} (maximale Harnflussrate), PVR (*post void residual*, Restharn), Hb (Hämoglobin). Fett geschriebene p-Werte zeigen statistisch signifikante Zusammenhänge an ($p < 0,05$).

Perioperative Komplikationen wurden durch die modifizierte Clavien-Dindo Klassifikation (CDC) berichtet (Tab. 8) ^{93,94}. Allgemein finden sich nur wenige Komplikationen in der gesamten Studienkohorte (20/487, 4,1 %), die im internationalen Vergleich damit deutlich geringer sind ⁹⁴. Es konnten keine Unterschiede in der Häufigkeit perioperativer Komplikationen zwischen den Patientengruppen festgestellt werden. Auch unterschieden sich die Patientengruppen nicht in der Schwere der Komplikationen. In unserer gesamten Patientenkohorte zeigte sich keine einzige CDC Grad V Komplikation (Tod), was mitunter durch den Einsatz isotoner Natriumchloridlösung als Spüllösung während der HoLEP zukommt. Das lebensbedrohliche transurethrale Resektions (TUR) -Syndrom kommt somit bei der HoLEP nicht vor.

Adverse Events (AEs)	Gruppe 1 (<70) (n=208)	Gruppe 2 (70-79) (n=164)	Gruppe 3 (≥80) (n=115)	p-Werte
Alle AEs; N (%)	5 (2,4 %)	10 (6,0 %)	5 (4,3 %)	0,176
Clavien Dindo I	0 (0,0 %)	4 (2,4 %)	0 (0,0 %)	
Clavien Dindo II	0 (0,0 %)	1 (0,6 %)	0 (0,0 %)	
Clavien Dindo III	5 (2,4 %)	4 (2,4 %)	5 (4,3 %)	
Clavien Dindo IV	0 (0,0 %)	1 (0,6 %)	0 (0,0 %)	
CDC ≥II vs <II	5 (2,3 %)	6 (3,0 %)	5 (4,3 %)	0,299

Tab. 8: Perioperative Komplikationen nach Clavien-Dindo. Perioperative Komplikationen bis 30 Tage nach HoLEP umfassten Makrohämaturie, mit prolongierter Harnblasenspülung oder chirurgischer Koagulation, Harnblasentamponade, Aspirationspneumonie. Fett geschriebene p-Werte zeigen statistisch signifikante Zusammenhänge an ($p < 0,05$).

Zusammenfassend zeigt die HoLEP also vielversprechende Ergebnisse und ein überzeugendes Sicherheitsprofil, gerade auch in der ältesten Patientenkohorte (≥80 Jahre).

4.5 Die HoLEP als größenunabhängiges Enukleationsverfahren

Da LUTS/BPO ein chronisch-progredientes Krankheitsbild beschreiben und ein Prostatawachstum von bis zu 2,5 % pro Jahr angenommen wird, erscheint es unabdingbar den Einfluss der Prostatagröße auf die funktionellen Ergebnisse der HoLEP zu untersuchen⁶². Diese Studie umfasst Daten von 852 Patienten mit Prostatavolumina bis zu 300 cc und konnte bestätigen, dass sich lediglich die Enukleationszeit, jedoch nicht die postoperativen funktionellen Ergebnisse zu Gunsten der kleineren Prostaten unterscheiden. Interessanterweise nimmt die Enukleationsgeschwindigkeit mit der Prostatagröße sogar signifikant zu. Damit ist die HoLEP nicht nur praktisch auch bei größten Prostatavolumina durchführbar, sondern auch noch effizienter.

Holmium laser enucleation of the prostate: a truly size-independent method?

Tamalunas A, Westofen T, Schott M, Keller P, Atzler M, Stief CG, Magistro G.

Low Urin Tract Symptoms. 2021. In press.

Histologisch betrachtet ist die BPH ein echter hyperplastischer Prozess mit einer Zunahme der Zellzahl sowohl in der periurethralen als auch in der Übergangszone der Prostata⁵⁷. Während α_1 -Adrenozeptor-Antagonisten sich durch einen inhibitorischen Effekt auf glattmuskuläre Kontraktion der Prostata zu einer raschen Symptomlinderung beitragen führt der Einsatz von 5-ARI erst längerfristig zu einer Abnahme der Prostatagröße und kann so das Fortschreiten der Erkrankung verlangsamen^{60,61}. Wenn überhaupt, verringern 5-ARI die Prostatagröße um nicht mehr als 25 % und die Verhinderung der Progression bleibt eine Herausforderung^{60,61}.

Unsere Patientenkohorten unterschieden sich signifikant im Alter, mit dem höchsten Durchschnittsalter in Gruppe 3 (Tab. 9). Obwohl der Altersunterschied klinisch nicht signifikant war, können wir die Altersabhängigkeit der Prostatagröße bestätigen, die in verschiedenen Studien bereits beschrieben wurde^{62,109}. Obwohl Alter und Prostatagröße korrelieren, führt ein erhöhtes Gesamtvolumen der Prostata allein nicht unbedingt zu LUTS, aber Patienten mit einer signifikant vergrößerten Prostata haben ein höheres Risiko therapiebedürftige LUTS zu

entwickeln ¹¹⁰. Patienten mit einem Prostatavolumen ≥ 120 cc wiesen einen signifikant niedrigeren präoperatives IPSS auf. Obwohl Patienten mit vergrößertem Prostatavolumen eher LUTS entwickeln, ist die Prostatagröße allein möglicherweise kein Prädiktor für den Schweregrad der LUTS ^{110,111}. Ein weiterer Hinweis zur Bestätigung dieser Vermutung kann auch der fehlende Unterschied im präoperativen Q_{\max} sein, der sich in unserer Untersuchung unabhängig von der Prostatagröße gezeigt hat. Obwohl oft ein Zusammenhang zwischen dem metabolischen Syndrom und der Prostatagröße oder dem Risiko für die Entwicklung von LUTS vermutet wurde, können wir diese Hypothese nicht bestätigen, da wir keinen signifikanten Unterschied im BMI zwischen den Gruppen zeigen konnten ¹¹².

Wie erwartet, beobachteten wir einen signifikant erhöhten medianen PSA bei Patienten mit deutlich vergrößerten Prostataen ¹¹³. Während es eine signifikante Korrelation zwischen der Prostatagröße und dem Gesamt-PSA gab, konnten wir keinen Unterschied in der PSA-Dichte zwischen den Gruppen zeigen, was auch durch unsere bisherigen Daten bestätigt wird, dass der PSA mit der volumetrischen Prostatagröße korreliert ¹¹⁴.

Während sich kein Unterschied zwischen den Gruppen im ASA-Score $\geq III$ finden ließ, zeigte sich jedoch eine erhöhte Anzahl von Patienten mit einem Harnblasenkatheter vor der Operation in Gruppe 3. Wir können daher die Ergebnisse von Roehrborn et al bestätigen, dass Patienten mit deutlich vergrößerter Prostata ein 3-fach höheres Risiko haben, einen akuten Harnverhalt zu entwickeln ¹¹⁵.

	Gruppe 1 (≤60cc) n=157	Gruppe 2 (>60<120cc) n=523	Gruppe 3 (≥120cc) n=172	p-Werte
Prostatgröße (cc)				
Median	55	83	139	<0,001
IQR	50 - 60	72 - 100	124 - 160	
Alter (Jahre)				
Median	70*	71**	73	*<0,003
IQR	62 - 76	65 - 76	69 - 77	**<0,02
BMI				
Median	25,6	26,0	26,2	0,540
IQR	23,9 - 28,3	24,1 - 27,8	24,0 - 29,0	
IPSS				
Median	19	19	17	<0,05
IQR	14 - 24	14 - 23	12 - 22	
QoL				
Median	4	4	4	0,722
IQR	2 - 5	3 - 5	3 - 4	
Qmax (ml/s)				
Median	11	11	11	0,941
IQR	8 - 15	8 - 15	8 - 15	
PVR (ml)				
Median	80	100	60	0,154
IQR	30 - 185	40 - 170	20 - 150	
Hb (g/dl)				
Median	15,0	14,7	14,7	0,105
IQR	14,1 - 15,6	13,8 - 15,5	13,9 - 15,4	
PSA (ng/ml)				
Median	3,2	5,5	8,9	
IQR	1,7 - 5,6	3,4 - 9,6	5,6 - 15,2	<0,001
PSA Dichte (ng/ml/cc)				
Median	0,06	0,06	0,06	0,277
IQR	0,03 - 0,11	0,04 - 0,11	0,04 - 0,10	
ASA score ≥III vs <III (%)	30,6 % (48)	31,0 % (162)	35,5 % (61)	0,509
DK (%)	20,4 % (32)	32,5 % (170)	40,1 % (69)	<0,002

Tab. 9: Präoperative und demographische Daten. IQR (*interquartile range*, Interquartilenabstand), BMI (*body mass index*), IPSS (*international prostate symptom score*), QoL (*quality of life*, Lebensqualität), Q_{max} (maximale Harnflussrate), PVR (*post void residual*, Restharn), Hb (Hämoglobin), PSA (Prostata-spezifisches Antigen), ASA (*American Society of Anesthesiologists*), DK (Harnblasendauerkatheter). Fett geschriebene p-Werte zeigen statistisch signifikante Zusammenhänge an (p<0,05).

Im Gruppenvergleich zeigt sich eine signifikant verlängerte Eukleationszeit bei größeren Drüsenvolumina (Tab. 10 und 11). Dies stimmt gut mit der aktuellen Literatur und den Daten überein, die wir kürzlich zu HoLEP-Lernkurven zusammengetragen haben ⁷⁷. Während Elzayat et al. zeigen konnten, dass HoLEP der OAE gegenüber funktionell gleichwertig ist, demonstrierten Park et al eine größenabhängige Eukleationszeit ^{116,117}. Während zu erwarten war, dass die Eukleations- und die Morcellationszeit mit der Prostatagröße zunehmen, stellten wir fest, dass die Eukleationsgeschwindigkeit mit der Prostatagröße signifikant zunahm. So ist die HoLEP nicht nur bei größeren Prostatavolumina durchführbar, sondern sogar noch effizienter. Dementsprechend zeigt, dass der Prozentsatz des entnommenen Gewebes mit größeren Prostatavolumina signifikant anstieg.

	Gruppe 1 (≤60cc) n=157	Gruppe 2 (>60<120cc) n=523	Gruppe 3 (≥120cc) n=172	p-Werte
Enukleation (min)				
Median	27	39	40	<0,001
IQR	24 - 38	30 - 55	33 - 53	
Enukleation (g/min)				
Median	1,08	1,60	2,79	<0,001
IQR	0,92 - 1,45	1,10 - 2,22	2,04 - 3,77	
Morcellation (min)				
Median	6	13	25	<0,001
IQR	4 - 9	10 - 18	15 - 35	
Morcellation (g/min)				
Median	5,50	5,00	4,57	0,603
IQR	4,00 - 7,15	3,87 - 6,06	3,65 - 5,33	
Gewebe (g)				
Median	35	63	115	<0,001
IQR	25 - 44	50 - 75	88 - 132	
Gewebe (%)				
Median	67	75	76	<0,001
IQR	53 - 80	63 - 87	65 - 90	
Katheter (Tage)				
Median	2,0	2,0	2,0	0,147
IQR	2,0 - 2,0	2,0 - 3,0	2,0 - 3,0	
Liegezeit (Tage)				
Median	3,0	3,0	3,0	0,104
IQR	3,0 - 3,0	3,0 - 4,0	3,0 - 4,0	
Δ Hb (g/dl)				
Median	0,9*	1,2**	1,8**	*<0,01
IQR	0,3 - 1,5	0,6 - 1,8	1,0 - 2,7	**<0,001
Δ IPSS				
Median	8	8	8	0,613
IQR	4 - 16	2 - 16	3 - 14	
Δ QoL				
Median	2	3	2	0,455
IQR	1 - 4	1 - 4	1 - 4	
Δ Qmax (ml/s)				
Median	10	11	9	0,620
IQR	5 - 18	6 - 21	4 - 19	
Δ PVR (ml)				
Median	77	77	53	0,169
IQR	29 - 180	30 - 160	14 - 150	

Tabelle 10: Perioperative Daten und klinische Befunde 4 Wochen nach HoLEP. IQR (*interquartile range*, Interquartilenabstand), IPSS (*international prostate symptom score*), QoL (*quality of life*, Lebensqualität), Q_{max} (maximale Harnflussrate), PVR (*post void residual*, Restharn), Hb (Hämoglobin). Fett geschriebene p-Werte zeigen statistisch signifikante Zusammenhänge an (p<0,05).

	Gruppe 4 (<80cc) n=410	Gruppe 5 (≥80cc) n=442	p-Werte
Enukleation (min)			
Median	32	40	<0,001
IQR	25 - 45	32 - 53	
Enukleation (g/min)			
Median	1,25	2,21	<0,001
IQR	0,91 - 1,67	1,48 - 2,78	
Morcellation (min)			
Median	9	17	<0,001
IQR	6 - 12	12 - 25	
Morcellation (g/min)			
Median	5,33	4,71	0,122
IQR	4,00 - 6,29	3,68 - 6,07	
Gewebe (g)			
Median	48	82	<0,001
IQR	36 - 60	68 - 107	
Gewebe (%)			
Median	73	76	0,019
IQR	60 - 85	62 - 88	
Katheter (Tage)			
Median	2,0	2,0	0,186
IQR	2,0 - 2,0	2,0 - 3,0	
Liegezeit (Tage)			
Median	3,0	3,0	0,124
IQR	3,0 - 3,0	3,0 - 4,0	
Δ Hb (g/dl)			
Median	1,0	1,5	<0,001
IQR	0,3 - 1,6	0,8 - 2,3	
Δ IPSS			
Median	8	8	0,222
IQR	3 - 16	2 - 14	
Δ QoL			
Median	3	3	0,322
IQR	1 - 4	1 - 4	
Δ Qmax (ml/s)			
Median	10	10	0,960
IQR	6 - 19	5 - 20	
Δ PVR (ml)			
Median	73	60	0,108
IQR	24 - 165	20 - 150	

Tabelle 11: Perioperative Daten und klinische Befunde 4 Wochen nach HoLEP. IQR (*interquartile range*, Interquartilenabstand), IPSS (*international prostate symptom score*), QoL (*quality of life*, Lebensqualität), Q_{max} (maximale Harnflussrate), PVR (*post void residual*, Restharn), Hb (Hämoglobin). Fett geschriebene p-Werte zeigen statistisch signifikante Zusammenhänge an (p<0,05).

Auch in der Subanalyse zweier relevanter Patientenkohorten (<80 cc versus ≥80 cc) bestätigen sich die Ergebnisse aus der ersten Analyse (Tab. 11). Obgleich die mediane Eukleationszeit statistisch signifikant – jedoch klinisch irrelevant – um 8 Minuten zunimmt, steigt die Effizienz der HoLEP bei größeren Prostatavolumina deutlich an. Die Subgruppenanalyse wurde vorgenommen, da die Europäischen und US-amerikanischen Leitlinien ab einer Prostatagröße von 80 cc eine offene Adenomenukleation empfehlen^{61,118}. Die Arbeitsgruppe des Habilitanden wollte anhand dieser Daten zeigen, dass nicht nur Patienten mit größten, i.e. ≥120cc, Prostatavolumina von der HoLEP profitieren, sondern eben schon auch diejenigen, die sich leitlinienkonform einer offenen Operation unterziehen hätten sollen.

Im Folgenden wird nun das Sicherheitsprofil der HoLEP in allen 5 Patientenkohorten gezeigt (Tab. 12 und 13).

Adverse Events (AEs)	Gruppe 1 (≤60cc) n=157	Gruppe 2 (>60<120cc) n=523	Gruppe 3 (≥120cc) n=172	p-Werte
Alle AEs; N (%)	9 (5,7 %)	41 (7,8 %)	13 (7,6 %)	0,760
Clavien Dindo I	4 (1,7 %)	15 (2,7 %)	3 (6,3 %)	
Clavien Dindo II	1 (0,4 %)	1 (0,4 %)	1 (0,3 %)	
Clavien Dindo III	4 (2,0 %)	21 (4,5 %)	6 (4,5 %)	
Clavien Dindo IV	0 (0,0 %)	4 (0,9 %)	3 (1,8 %)	
CDC ≥II vs <II	5 (3,2 %)	26 (5,0 %)	10 (5,8 %)	0,492

Tabelle 12: Perioperative Komplikationen nach Clavien-Dindo. Perioperative Komplikationen bis 30 Tage nach HoLEP umfassten Makrohämaturie, mit prolongierter Harnblasenspülung oder chirurgischer Koagulation, Harnblasentamponade, Anlage bzw. Belassen eines suprapubischen Katheters, DJ-Anlage, Aspirationspneumonie, Urosepsis, Myokardinfarkt, pulmonalarterielle Embolie. Fett geschriebene p-Werte zeigen statistisch signifikante Zusammenhänge an (p<0,05).

Adverse Events (AEs)	Gruppe 4 (<80cc) n=410	Gruppe 5 (≥80cc) n=442	p-Werte
Alle AEs; N (%)	31 (7,6 %)	32 (7,2 %)	0,329
Clavien Dindo I	11 (2,7 %)	11 (2,4 %)	
Clavien Dindo II	1 (0,2 %)	2 (0,5 %)	
Clavien Dindo III	18 (4,4 %)	13 (2,9 %)	
Clavien Dindo IV	1 (0,2 %)	6 (1,4 %)	
CDC ≥II vs <II	19 (4,6 %)	19 (4,3 %)	0,463

Tabelle 13: Perioperative Komplikationen nach Clavien-Dindo. Perioperative Komplikationen bis 30 Tage nach HoLEP umfassten Makrohämaturie, mit prolongierter Harnblasenspülung oder chirurgischer Koagulation, Harnblasentamponade, Anlage bzw. Belassen eines suprapubischen Katheters, DJ-Anlage, Aspirationspneumonie, Urosepsis, Myokardinfarkt, pulmonalarterielle Embolie. Fett geschriebene p-Werte zeigen statistisch signifikante Zusammenhänge an ($p < 0,05$).

Obwohl die Operation größerer Prostatavolumina also deutlich länger dauert, zeigen Enukleationsverfahren, wie die HoLEP, eine hohe funktionelle Effektivität, insbesondere bei größeren Prostataen, aber auch bei Prostataen, die normalerweise für eine TURP in Frage kämen. Darüber hinaus weist die HoLEP ein äußerst vorteilhaftes Sicherheitsprofil bei großen und selbst bei größten Prostatavolumina auf. Somit stellt die HoLEP eine Behandlungsoption für LUTS/BPO, unabhängig von der Prostatagröße, dar ^{102,117,119}.

5 Zusammenfassende Diskussion und Schlussfolgerungen

5.1 Neue medikamentöse Ansätze in der Pharmakotherapie des BPS

Untersuchungen im Labor des Habilitanden haben gezeigt, dass die Regulation der prostatistischen glattmuskulären Kontraktion wesentlich auch von nicht-adrenergen Mediatoren abhängt, was eine mögliche Erklärung für die limitierte Wirksamkeit des aktuellen Therapiestandards mit α_1 -Blockern und 5-ARI sein könnte³⁶.

Exemplarisch zeigt sich dieser Effekt einer nicht-adrenergen Prostataktraktion am Einsatz von Endothelinen. Sie können eine starke α_1 -Rezeptor-unabhängige Kontraktion der glatten Prostatamuskulatur auslösen⁸³. Die Endotheline sind drei strukturell verwandte Isopeptide, das Endothelin-1 (ET-1), Endothelin-2 (ET-2) und Endothelin-3 (ET-3)¹²⁰. Sie haben zwei Disulfidbrücken und bestehen aus 21 Aminosäuren^{120,121}. ET-1 vermittelt die stärkste bekannte Vasokonstriktion über Kontraktion glatter Gefäßmuskulatur¹²². Die Wirkung von Endothelinen wird über die Endothelinrezeptoren ET(A) und ET(B) vermittelt, welche G-Protein-gekoppelte Rezeptoren mit sieben Transmembrandomänen sind¹²³. Die unterschiedliche Affinität der Endothelin-Isopeptide ist über die Struktur ihres N-terminalen Endes charakterisiert: so bindet ET-1 mit höherer Affinität als ET-2 an ET(A) und ET-3 bindet mit höherer Affinität als ET-1 an ET(B)^{123,124}. Die Endothelinrezeptoren werden in der humanen Prostata exprimiert und die Kontraktion nach Bindung der Endothelinisopeptide an den Rezeptor verläuft analog der adrenergen Kontraktion^{46,47,125-129}. In Studien konnte zudem gezeigt werden, dass allein die Endotheline und ihre Analoga an die Endothelinrezeptoren binden und diese aktivieren, womit die Endothelinrezeptoren spezifisch sind^{46,130}.

Vor diesem Hintergrund konnte die Arbeitsgruppe des Habilitanden bereits in mehreren Publikationen zeigen, dass die glattmuskuläre Prostataktraktion nicht alleine auf die α -adrenerge Kontraktion zurückzuführen ist, sondern nicht-adrenerge Mediatoren eine Kontraktion auch im Beisein von α_1 -Blockern aufrechterhalten können¹³¹. So ist die

Kontraktion der glatten Prostatamuskulatur, die durch Noradrenalin und Endothelin-1 gleichzeitig induziert wird zwar komplementär, aber nicht additiv. Endothelin-1 allein reicht jedoch aus, um eine Kontraktion ähnlicher Intensität wie durch Noradrenalin hervorzurufen, und hat das Potential den fehlenden α_1 -adrenergen Tonus unter Therapie mit α_1 -Blockern vollständig zu ersetzen, was die begrenzte Wirksamkeit von α_1 -Blockern bei der LUTS-Behandlung erklären könnte. Zudem können Kontraktionen durch Thromboxan-Analoga (U46619, TXA2) und Endothelin-1 additiv sein und den α_1 -adrenergen Tonus sogar noch übersteigen³⁶. Hieraus ergibt sich die dringende Notwendigkeit, an weiteren potentiellen Medikamenten zu forschen, die sowohl die adrenerge wie auch nicht-adrenerge Kontraktion in der humanen Prostata hemmen.

Im Zuge dessen konnten bereits diverse potentielle Wirkstoffe im Labor des Habilitanden entdeckt werden, die einen Einfluss auf die glattmuskuläre Kontraktion der humanen Prostata und/oder Prostatazellproliferation haben^{42,83,132-135}. Aufbauend auf den Ergebnissen, die der Habilitand bereits während seiner experimentellen Dissertation zur Bedeutung von Inhibitoren der p21-aktivierten Kinase (PAK) auf die glattmuskuläre Regulation und Zellproliferation in der humanen Prostata erhoben hat, erfolgten die hier vorgestellten Untersuchungen zu möglichen, neuen medikamentösen Ansatzpunkten⁴². Aus klinisch-translationaler Sicht sind die bereits als Arzneimittel zugelassenen Substanzen Thalidomid und dessen Derivate Lenalidomid und Pomalidomid einige der vielversprechendsten Substanzen, die im Labor des Habilitanden bisher untersucht wurden^{95,96}.

Bedeutung der Teilprojekte 4.1 und 4.2 für das Fachgebiet

Beide Teilprojekte müssen in ihrer Bedeutung für das Fachgebiet des Habilitanden gemeinsam betrachtet werden, da sie unmittelbar aufeinander aufbauen. Thalidomid wurde Mitte des 20. Jahrhunderts als rezeptfreies Beruhigungsmittel (Contergan®) in den Markt eingeführt, das häufig bei schwangerschaftsbedingter morgendlicher Übelkeit verwendet wurde. Hier kam es gehäuft zu fetalen Fehlbildungen, weshalb das Medikament später vom Markt genommen werden musste¹³⁶. Thalidomid ist jedoch seit 1998 von der *Food and Drug Administration* (FDA) wieder zur Behandlung des Erythema nodosum leprosum (ENL) zugelassen worden, da es eine entzündungshemmende und immunmodulatorische Wirkung hat (als sog. IMiD,

immuno-modulatory drug)¹³⁷⁻¹⁴¹. Später richtete das produzierende Unternehmen ein Programm ein, das als *System for Contergan Education and Prescribing Safety* (STEPS) bekannt ist. Thalidomid wird mittlerweile bei vielen Erkrankungen, wie Morbus Behçet, Morbus Crohn, Lupus, komplexem Schmerzsyndrom und rheumatoider Arthritis eingesetzt und erweitert sein therapeutisches Spektrum kontinuierlich¹³⁷⁻¹⁴¹. Thalidomid hat wenige Nebenwirkungen, zu denen jedoch Verstopfung, Sedierung und Neuropathie zählen. In niedrigeren Dosierungen wird es dennoch gut vertragen. Bis heute ist der genaue Wirkmechanismus von Thalidomid unklar, da es das Potential hat, über viele verschiedene Mechanismen seine Wirkung zu entfalten^{142,143}. In einer der hier vorstellten Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Kontraktion der glatten Muskulatur der menschlichen Prostata und das gutartige Prostatawachstum durch Thalidomid gleichzeitig gehemmt werden können, d.h. unter Verwendung einer einzigen Substanz⁹⁵. Während die strukturelle Ähnlichkeit seiner Derivate eine analoge Wirkungsweise vermuten lässt, hat die Wirksamkeit von Thalidomid bei verschiedenen nichtmalignen Erkrankungen unser Interesse an weiterführenden Untersuchungen von Lenalidomid und Pomalidomid im Zusammenhang mit dem BPS geweckt.

Thalidomid, Lenalidomid und Pomalidomid sind synthetische Glutaminsäurederivat mit antiinflammatorischen, immunregulatorischen und antiangiopro-liferativen Eigenschaften^{137,139,144}. Aus anderen Organsystemen (Leber, Lunge) ist bereits bekannt, dass Thalidomid Einfluss auf die die Expression und Synthese des *vascular endothelial growth factor* (VEGF), des *transforming growth factor beta* (TGF- β) und des *α -smooth muscle actin* (α -SMA) ausübt und diese herabreguliert¹⁴⁵⁻¹⁴⁷. Solche Wachstumsfaktoren scheinen, neben Androgenen, entscheidende Regulatoren des Prostatawachstums zu sein. Insbesondere scheint der TGF- β hierbei eine wichtige Rolle zu spielen^{51,52}. Diverse Effekte des Thalidomids und seiner Derivate werden deshalb bereits seit Jahrzehnten diskutiert, unter anderem dessen Einfluss auf den TGF- β und, folglich, die Myofibroblastendifferenzierung¹⁴⁵⁻¹⁴⁷. Eine sichere Applikation von Thalidomid und Lenalidomid zur Therapie des Erythema nodosum leprosum (ENL) oder des Multiplen Myeloms ist bereits möglich und etabliert¹³⁹⁻¹⁴¹.

Einer dieser Mechanismen ist beispielsweise die Anti-Angiogenese, wie sie bereits in Hornhautmodellen von Tieren beobachtet wurde¹⁴⁸. Während diese antiangiogenetischen

Eigenschaften durch Metaboliten der sogenannten IMiDs vermittelt werden und wahrscheinlich auf die Hemmung des *basic fibroblast growth factor* (bFGF) und des VEGF zurückzuführen sind, hemmen Thalidomid und seine Derivate auch *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α) zusammen mit anderen Zytokinen und können Adhäsionsmoleküle verändern¹³⁷⁻¹⁴². Ähnlich der Angiogenese ist die BPH ein echter hyperplastischer Wachstumsprozess, der von einem komplexen Zusammenspiel aus Wachstumsfaktoren und Zytokinen abhängt, die sich teilweise mit proangiogenetischen Faktoren überlappen¹⁴⁹.

Obwohl die genauen Wirkmechanismen von Thalidomid und seinen Derivaten unbekannt sind, besteht ein Konsens darüber, dass alle drei Glutaminsäure-Derivate auf eine ähnliche Weise wirken. Aus anderen Organsystemen bereits bekannt ist, dass Thalidomid eine wichtige Rolle bei der Regulation und Expression bestimmter Wachstumsfaktoren wie VEGF, TGF- β und (α -SMA) spielen kann¹⁴⁵⁻¹⁴⁷. Parallel zu Androgenen und Entzündungsmediatoren können solche Wachstumsfaktoren signifikant zum Prostatawachstum beitragen^{149,150}. Interessanterweise haben frühere Studien gezeigt, dass Entzündungsfaktoren, wie TGF- β , zusätzlich zu ihren typischen Entzündungsfunktionen auch die Angiogenese begünstigen können, und was noch wichtiger ist, dass diese Faktoren in einigen Fällen von BPH-Geweben mit Entzündung stark exprimiert wurden^{151,152}. Daher untersuchten wir den Effekt von Thalidomid, Lenalidomid und Pomalidomid auch auf die Proliferation von WPMY-1-Zellen.

Nach Inkubation der WPMY-1-Zellen mit Thalidomid, Lenalidomid oder Pomalidomid zeigt sich für jede der Substanzen eine signifikant reduzierte Proliferationsrate in den exponierten Zellen gegenüber der Kontrolle. Die Proliferationsrate wurde unter Verwendung eines EdU-Assays ausgewertet und war für alle Substanzen konzentrationsabhängig. Während die Fähigkeit von WPMY-1-Zellen, adhärente Zellkolonien zu bilden, auf ihren karyotypisch veränderten Zustand zurückzuführen ist, kann eine signifikante Hemmung des kollektiven Zellwachstums durch Thalidomid, Lenalidomid und Pomalidomid im Zellkolonie-Assay die Annahme einer hemmenden Wirkung auf das Prostatawachstum weiter stützen^{84,85,153}.

Abgesehen von dem vermehrten Zellwachstum in der Prostata trägt auch eine übermäßige Kontraktilität der glatten Prostatamuskulatur zu LUTS bei. Da für jede Art von Kontraktion der glatten Muskulatur eine korrekte Organisation und adäquate Polymerisation von Aktinfilamenten erforderlich ist, untersuchten wir auch die Wirkung von Thalidomid, Lenalidomid und Pomalidomid auf das Aktinzytoskelett der Prostata. Mittels Phalloidin-Färbung konnten wir Aktinfilamente in kultivierten WPMY-1-Zellen sichtbar machen. Alle drei Substanzen veränderten die Aktinorganisation signifikant, sowohl quantitativ wie auch qualitativ. Eine korrekte Organisation der Aktinfilamente ist jedoch Grundvoraussetzung für die glattmuskuläre Kontraktion. Dies könnte auch der Grund für die ubiquitäre Hemmung durch Thalidomid, Lenalidomid und Pomalidomid auf die Kontraktion der glatten Prostatamuskulatur sein, die in den Organbadversuchen bei einer Vielzahl von Agonisten beobachtet werden konnte. Daher scheint es naheliegend, dass es durch die Imide zu einem Verlust der glattmuskulären Kontraktilität in der Prostata kommt, welcher sich im Gegensatz zu den α_1 -Blockern nicht nur auf die α_1 -adrenerge, sondern gleichzeitig auf die adrenerge und nicht-adrenerge Kontraktion auswirken könnte ^{95,96,154-156}. Folglich könnten alle drei Glutaminsäure-Derivate vielversprechende Kandidaten für die in vivo-Anwendung bei Patienten mit LUTS/BPO sein.

Korrespondierend zu diesen Ergebnissen konnten wir erstmals für alle drei Substanzen eine signifikante, starke und robuste Hemmung der glatten Muskelkontraktion an intaktem humanem Prostatagewebe zeigen. Die Prostatagewebe wurden entweder mit Thalidomid (30-100 μ M), Lenalidomid (20 μ M) oder Pomalidomid (5 μ M) im Organbad inkubiert. Wir konnten eine deutliche Hemmung der Prostatakontraktion nach unterschiedlichen kontraktiven Stimuli beobachten, d.h. sowohl nach α_1 -adrenerger, nicht-adrenerger (Endothelin und Thromboxan) und neurogener Stimulation durch EFS. Obwohl sich der Effekt von Pomalidomid auf nicht-adrenerge Kontraktionen in Grenzen zu halten scheint, könnte es aufgrund seiner hohen oralen Bioverfügbarkeit immer noch eine vielversprechende medikamentöse Option bei männlichen LUTS/BPS sein. Signifikante hemmende Wirkungen auf ein so breites Spektrum kontraktiver Mechanismen sind bisher für keines der IMiDs bekannt gewesen und könnten eine hohe Wirksamkeit in vivo nach sich ziehen.

Auch wenn man das menschliche Prostatawachstum mit der einhergehenden Angiogenese zwar einem neoplastischen Prozess gleichsetzen könnte, bleibt die benigne Prostatahyperplasie eine gutartige Erkrankung. Somit darf die Lebensfähigkeit der Prostatazellen durch neue potentielle Medikamente nicht beeinträchtigt werden. Tatsächlich zeigen die Daten in den hier vorgestellten Arbeiten keine Verringerung der Lebensfähigkeit von WPMY-1-Zellen nach Inkubation mit Thalidomid, Lenalidomid oder Pomalidomid in verschiedenen hohen Konzentrationen ^{95,96}. In Übereinstimmung mit den Daten zur Lebensfähigkeit der WPMY-1 Zellen, kam es unter Thalidomid, Lenalidomid oder Pomalidomid auch nicht zu einer vermehrten Apoptose oder einem ungerichteten Zelltod ^{95,96}.

Es gibt zunehmende Hinweise darauf, dass die Wirksamkeit einer α_1 -Blocker-Monotherapie durch nicht-adrenerge Mediatoren der Kontraktion der glatten Prostatamuskulatur in ihrer Wirksamkeit limitiert bleibt ³⁶. Da bis zu 49 % der Patienten vor einer operativen Behandlung ihrer gutartigen Prostatavergrößerung bereits LUTS-Medikamente eingenommen haben, ist die Nachfrage nach neuen medikamentösen Therapieoptionen hoch ⁶⁹. Dies zeigt sich auch anhand der Einführung neuer Hemmstoffe wie Silodosin und Tadalafil. Während Silodosin eine höhere Subtypselektivität für den α_{1A} -Adrenozeptor aufweist und somit weniger α_{1B} -adrenerge kardiovaskuläre Nebenwirkungen zeigt, nutzt der Phosphodiesterase-5 (PDE5)-Inhibitor Tadalafil die hohe Expression und Aktivität von PDE5 in der prostatistischen Harnröhre ^{61,157,158}. Kürzlich erst konnte eine placebokontrollierte Studie die synergistische Wirkung der Hemmung verschiedener kontraktiler Mechanismen der glatten Prostatamuskulatur durch die Kombination des α_1 -Blockers Tamsulosin mit Tadalafil zeigen, jedoch addierten sich auch die Nebenwirkungen ¹⁵⁹.

Da Thalidomid bereits eine ähnliche Wirkungsweise wie PDE-Hemmern zugeschrieben wurde, könnten seine leicht erhältlichen Derivate eine ähnliche Wirksamkeit wie aktuelle Mono- und vielleicht sogar Kombinationstherapien zeigen, indem sie eine ubiquitäre hemmende Wirkung auf die Kontraktion der glatten Prostatamuskulatur und gleichzeitig eine Verringerung des Prostatawachstum herbeiführen, ohne zusätzliche Nebenwirkungen ¹⁵⁴.

Schlussfolgerung

Hier konnte die Arbeitsgruppe des Habilitanden also zeigen, dass Thalidomid und seine Abkömmlinge, Lenalidomid und Pomalidomid, gleichzeitig und jede Substanz für sich genommen, einen inhibitorischen Effekt auf das Prostatawachstum und die Kontraktion der glatten Muskulatur in der humanen Prostata ausüben^{95,96}. Da beide Prozesse entscheidende Faktoren der Ätiologie und Pathophysiologie männlicher LUTS sind, liegt eine optimale Behandlungsstrategie in der gleichzeitigen Behandlung beider Komponenten, vorzugsweise mit einer einzigen potenten Substanz. Während derzeitige Mono- und sogar Kombinationstherapien die männlichen Miktionsymptome nicht ausreichend behandeln können, gibt es nun zunehmend Hinweise darauf, dass Thalidomid und seine Derivate durch ihre Vielfalt an potentiellen Wirkungsmechanismen vielversprechende zukünftige Behandlungsoptionen bei männlichen LUTS in Folge von BPO sein könnten^{20,38,61,95}. Nach aktuellem Kenntnisstand wurden jedoch weder Thalidomid, Lenalidomid noch Pomalidomid in klinischen Studien bezüglich potentieller urodynamischer Effekte untersucht. Grundsätzlich sind die Erkenntnisse, die aus den Arbeiten hervorgegangen sind, neu, und haben das Potential eine große Lücke in der medikamentösen Behandlung der LUTS/BPS zu schließen.

5.2 HoLEP als neuer Therapiestandard zur Behandlung des medikamentenrefraktären BPS

Durch den demographischen Wandel in westlichen Industrienationen, kommt es zu einer Verschiebung hin zu einer immer älteren Bevölkerung^{63,160}. Dies führt nicht nur zu einer steigenden Prävalenz an benignen Prostataerkrankungen, sondern auch zu einem immer länger bestehenden Krankheitsbild von LUTS/BPO. Da es sich bei LUTS/BPO um eine chronisch voranschreitende Erkrankung handelt, stellen die immer älter werdenden Patienten mit immer länger bestehenden Beschwerden und deren funktionellen Folgen, eine immer größer werdende Herausforderung in der Behandlung des BPS dar. Die rein histologische Diagnose einer benignen Prostatahyperplasie liegt bereits bei fast der Hälfte der 50-jährigen Männer vor, und schreitet auf über 80 % in der über-80-jährigen männlichen Bevölkerung voran^{109,161}. Etwa die Hälfte der betroffenen Personen wird dabei symptomatisch^{13,61}. Eine besondere Herausforderung sind die immer älter werdenden Patienten, da diese vulnerable

Patientengruppe oftmals eine Vielzahl an Risikofaktoren, wie Polypharmazie und multiple Komorbiditäten mit sich bringt⁶⁴⁻⁶⁶.

Diesen Patienten kann oftmals keine medikamentöse Therapie mehr angeboten werden, da die zu erwartenden unerwünschten Arzneimittelwirkungen, den limitierten Effekt der Therapie übersteigen⁶⁷. Zudem nehmen fast die Hälfte der Patienten bereits LUTS-Medikamente ein, wenn sie sich für eine operative Desobstruktion entscheiden⁶⁹. Die Anzahl der medikamenten-refraktären Patienten ist damit enorm.

Bei medikamentenrefraktären Patienten, oder bei Patienten, die keine LUTS-Medikamente erhalten können, ist die subvesikale Desobstruktion Mittel der Wahl. Die US-amerikanischen und europäischen Leitlinien orientieren sich bei ihren Empfehlungen zu den möglichen Verfahren vornehmlich an der Prostatagröße^{61,118}. Obwohl die HoLEP ein größenunabhängiges und in ihrer Effektivität der OAE vergleichbares minimal-invasives Verfahren zur operativen Desobstruktion der BPO ist, wird sie dennoch vergleichsweise selten – und wenn überhaupt – lediglich in Zentren angeboten. Die HoLEP geht zwar mit einer verhältnismäßig steilen Lernkurve einher, verzeichnet jedoch den höchsten relativen Zuwachs durchgeführter minimal-invasiver Eingriffe an der Prostata in den letzten Jahren in Deutschland^{30,77,78}.

Bedeutung des Teilprojekts 4.3 für das Fachgebiet

Fast die Hälfte aller Patienten, die sich zu einer subvesikalen Prostatadesobstruktion vorstellen, haben im Zeitraum des Vorjahres mindestens ein Medikament zur Behandlung ihrer LUTS eingenommen⁶⁹. Dass diese Zahlen erschreckend sind, liegt auf der Hand. Arbeiten zu dem präoperativen Einfluss von LUTS-Medikamenten beschäftigen sich meist mit der Fragestellung der Medikamenteneinnahme in einem bestimmten Zeitraum vor der Operation, jedoch nicht mit dem konkreten Einfluss bei fortbestehender Einnahme bis zur OP selbst. Dies mag vor allem an der enttäuschenden Wirksamkeit der verfügbaren Präparate liegen, die mit einer hohen Diskontinuitätsrate und/oder Wechsel des therapeutischen Regimes einhergeht^{10,38,39}. Die limitierte Wirksamkeit in Kombination mit einem ungünstigen

Nebenwirkungsprofil, trägt zu hohen Abbruchraten bei, was eine adäquate Patientenselektion mitunter erschweren kann ^{40,41}.

So konnte die Arbeitsgruppe des Habilitanden zeigen, dass lediglich 34,1 % unserer Patienten zum Zeitpunkt der Operation eine aktive Behandlung mit LUTS-Medikamenten durchführten. Die Einschlusskriterien in die einzelnen Kohorten waren streng, sodass nur Patienten zugeordnet wurden, die eine aktive Behandlung mit α_1 -Blockern für mindestens 4 Wochen und/oder 5-ARI für mindestens 3 Monate vor HoLEP bekamen. Allein der Blick auf die demographischen Parameter der Studienkohorten lässt mehrere wichtige Rückschlüsse zu. So zeigt sich bereits präoperativ ein signifikanter Unterschied im IPSS. Während sich die Gruppen 1 (keine Medikation) und 2 (nur α_1 -Blocker) nicht unterscheiden, hebt sich Gruppe 3 (α_1 -Blockern + 5-ARI) lediglich mit einem Unterschied von 2 Punkten ab. Wenn man nun bedenkt, dass eine Differenz im IPSS ≥ 3 Punkten erreicht werden muss, damit die Therapie von Patienten als effektiv empfunden wird, ist dieser klinisch irrelevante Unterschied im IPSS für die Kombinationstherapie geradezu miserabel ⁹⁸. Die Patienten der Gruppe 3 haben also keinen Vorteil von der medikamentösen Therapie im Vergleich zur Gruppe 1, nehmen aber dennoch das maximale Nebenwirkungsprofil einer Kombinationstherapie von α_1 -Blockern und 5-ARI auf sich.

Andererseits spricht der hohe Anteil (39 %) an Patienten in Gruppe 1, die sich zum Zeitpunkt der Operation mit einem Harnblasendauerkatheter vorgestellt hatte, für die Wirksamkeit der Kombinationstherapie: wengleich die Patienten keinen klinischen Effekt (IPSS) spüren können, verringert sich zumindest das Risiko für Harnverhalte.

In einer kürzlich durchgeführten prospektiv randomisierten und placebokontrollierten Studie wurde die Hypothese aufgestellt, dass eine kurzfristige präoperative Behandlung mit 5-ARI den perioperativen Blutverlust und somit auch den Bedarf an Bluttransfusionen signifikant reduziert. Der Vorschlag einer 4-wöchigen Vorbehandlung mit 5-ARI vor einer TURP ging damit sogar in die Literatur ein ¹⁰³. Die hier vorliegende Arbeit kann diesen Effekt nicht bestätigen, und zeigt sogar einen statistisch – wenn auch klinisch irrelevanten – signifikant höheren

Blutverlust in der Gruppe, die mit 5-ARI vorbehandelt war. Ein möglicher protektiver Effekt von 5-ARI ist bereits umstritten und die hier vorliegende Arbeit zeigt deutlich auf, mit welcher Vorsicht auch vielversprechende klinische Daten interpretiert werden sollten¹⁰⁴.

Schlussfolgerung:

Patienten, die sich einem Eingriff zur subvesikalen Desobstruktion aufgrund von LUTS/BPO unterziehen, werden meist in unterschiedlichen Stadien der Erkrankung vorstellig. Viele von ihnen haben vielleicht schon von einer medikamentösen Therapie profitiert, sind aber entweder mit den Ergebnissen unzufrieden oder können aufgrund eines ungünstigen Risikoprofils keine LUTS-Medikamente erhalten. Die Arbeitsgruppe des Habilitanden konnte in der hier vorliegenden Arbeit zeigen, dass die HoLEP, unabhängig von der präoperativen medikamentösen Therapie, ein sicheres Verfahren ist, das daher einer Vielzahl unterschiedlicher Patienten angeboten werden kann, während eine Vortherapie mit 5-ARI jedoch keinen protektiven Einfluss auf den perioperativen Blutverlust hatte. So unterschiedlich die präoperativen Kohorten auch gewesen sein mögen, so adäquat profitieren nach der HoLEP alle Gruppen gleichermaßen. Zusammenfassend zeigt sich der Eingriff, unabhängig von der Vortherapie, als erfolgreich und symptomlindernd, was auch an der deutlichen Zunahme der Lebensqualität aller Patienten sichtbar wird.

Bedeutung des Teilprojekts 4.4 für das Fachgebiet:

Da die Prävalenz von LUTS/BPO mit einem höheren Lebensalter zunimmt, steigt auch die Wahrscheinlichkeit für Komorbiditäten in dieser Patientenpopulation^{13,61}. Viele Patienten mit medikamentenrefraktären LUTS/BPO, die sich zur minimalinvasiven Operation vorstellen, nehmen nicht absetzbare Antikoagulanzen zu sich. Gerade die neuen oralen Antikoagulanzen (NOAK) stellen uns dabei vor eine große Herausforderung, da sich bei Ihnen nicht der Quick oder die partielle Thromboplastinzeit (pTT) zum Therapiemonitoring eignet. Die stetig zunehmende Lebenserwartung lässt den Blick auf die älteste Altersgruppe der ≥ 80 -jährigen Bevölkerung im Detail zu. Gerade bei diesen Patienten stehen sich eine zunehmende Prävalenz von Detrusor-Unteraktivität (DU) und die BOO im Rahmen einer benignen Prostataobstruktion gegenüber^{100,107,108}. Präoperativ zeigen sich in ihrem LUTS-Profil

homogene und vergleichbare Patientenkohorten. Dies geht einher mit der Hypothese, dass zwar die Prävalenz symptomatischer LUTS mit dem Alter zunimmt, das Alter alleine jedoch nicht mit dem Schweregrad der Beschwerden korreliert^{13,61}. Wie zu erwarten zeigt sich der Anteil der Patienten mit einem ASA score \geq III mit 65 % am höchsten in der ältesten Patientenkohorte. Nichtsdestoweniger zeigt sich weder in der Anzahl an perioperativen Komplikationen, noch im Schweregrad ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. Bereits in weiteren Arbeiten und anhand der hier vorliegenden Arbeit konnte die Arbeitsgruppe des Habilitanden zeigen, dass die HoLEP nicht nur mit einer allgemein niedrigen Komplikationsrate einhergeht, sondern bei Blutungskomplikationen der klassische TURP sogar noch überlegen ist^{101,162}.

In den postoperativen funktionellen Ergebnissen zeigen sich signifikante Verbesserungen in allen Kohorten. So zeigt sich eine für die Patienten spürbare Abnahme im Leidensdruck (IPSS) sowie eine signifikante und objektive Verbesserung in den urodynamischen Surrogatparametern Restharn und Harnflussrate⁹⁸. Zusätzlich weisen alle Gruppen eine deutliche Verbesserung ihrer Lebensqualität auf, die präoperativ sowohl durch die LUTS-Beschwerden an sich, wie auch durch die dafür eingenommenen Medikamente reduziert sein kann. Obwohl es keine eindeutige Assoziation zwischen dem Alter des Patienten und den funktionellen Ergebnissen nach HoLEP gibt, mag dem verminderten Effekt im IPSS in der Gruppe der ältesten Patienten die Dauer der Erkrankung und erhöhte Prävalenz einer DU zugrunde liegen^{100,107,108}.

Schlussfolgerung

Während ein erhöhtes Patientenalter sowohl mit Anämie wie auch der erhöhten Prävalenz eines Antikoagulanziengebrauchs einhergehen kann, kann ein erhöhter ASA score auch Ausdruck der erhöhten Vulnerabilität dieser Patientengruppe sein^{63,105,106}. So stehen Urologen im Angesicht stetig steigender Lebenserwartungen vor der Wahl zwischen einer Vielzahl minimal-invasiver Techniken zur subvesikalen Prostatadesobstruktion. Die Arbeitsgruppe des Habilitanden konnte in der hier vorliegenden Arbeit zeigen, dass die HoLEP ein auch für die älteste und vulnerabelste Patientenkohorte geeignetes Verfahren ist. Somit

ergänzt diese Arbeit eine spezifische Lücke in der aktuellen Literatur und gibt einen Handlungsleitfaden in der klinischen Praxis zum Management des medikamentenrefraktären BPS.

Bedeutung des Teilprojekts 4.5 für das Fachgebiet

Dieses Teilprojekt ist von größter Relevanz für das Fachgebiet des Habilitanden, da es mit veralteten Entscheidungsmustern in der Therapie des BPS bricht. Die US-amerikanischen und europäischen Leitlinien orientieren sich bei ihren Empfehlungen zu den möglichen Verfahren vor allem an der Prostatagröße. So wird beispielsweise die transurethrale Inzision der Prostata (TUIP) für Drüsenvolumina <30 cc und die offene Adenomenukleation (OAE) für größte Prostatavolumina >80 cc empfohlen, im Bereich dazwischen liegt die Entscheidungsfreiheit des Operators aus einer Plethora verschiedener Verfahren auszuwählen^{61,118}. Obwohl die HoLEP ein größenunabhängiges und in ihrer Effektivität der OAE vergleichbares minimal-invasives Verfahren zur operativen Desobstruktion der BPO ist, empfehlen die Leitlinien immer noch die OAE bei größten Prostatavolumina (≥ 120 cc)^{30,77,78}. Ein Eingriff der mit seiner Invasivität der Benignität der Erkrankung gegenübersteht und deutlich macht, dass weiterführende Untersuchungen auf dem Gebiet minimal-invasiver Enukleationsverfahren notwendig sind.

Wir haben unsere Untersuchungen insbesondere auf die großvolumige Prostata fokussiert, weshalb wir für unsere Patientengruppen die oben genannten Cut-Offs gewählt haben: Zum einen ist in Gruppe 1 die TURP möglich und leitlinienkonform, zum anderen empfehlen die aktuellen Leitlinien in Gruppe 3 die OAE. Park et al. konnten bereits zeigen, dass die HoLEP auch bei Drüsenvolumina <30 cc effektiv und effizient durchführbar war¹¹⁷. In unserer Gesamtkohorte befinden sich jedoch nur vier Patienten mit Drüsen <30 cc, die in Gruppe 1 subsumiert wurden. Ziel dieser Untersuchung war es zu zeigen, dass die HoLEP in Patientenkohorten sinnvoll und effizient durchführbar ist, in denen die aktuellen Leitlinien ein anderes und wesentlich invasiveres Vorgehen empfehlen^{61,118}.

Zunächst jedoch bestätigt diese Arbeit recht deutlich die bereits früher aus der Klinik des Habilitanden hervorgegangenen Ergebnisse, dass der PSA-Wert nicht losgelöst von der Prostatagröße und Klinik des Patienten als Tumormarker eingesetzt werden kann ¹⁶³. So zeigt sich, dass zwar der Gesamt-PSA zwischen den Patientengruppen mit 3,2, 5,5 bzw. 8,9 ng/ml für die Gruppen 1-3 signifikant unterschiedlich war, jedoch eben auch das Prostatavolumen. Entzündungen können den PSA-Wert deutlich verändern und treten häufig bei Patienten mit akutem Harnverhalt aufgrund einer gutartigen Prostataobstruktion auf. Zudem können wir recht deutlich die Daten von Roehrborn et al bestätigen, dass Patienten mit deutlich vergrößerter Prostata ein höheres Risiko haben, einen akuten Harnverhalt zu entwickeln ¹¹⁵. Allerdings kann Gewebsinflammation sowohl Bestandteil der alternden Prostata wie auch Ausdruck eines malignen Geschehens sein. Aus diesem Grund wurden Patienten mit hohen präoperativen PSA-Werten und Verdacht auf Prostatitis oder Prostatakrebs mittels MRT untersucht und entweder vor HoLEP antibiotisch behandelt oder bei Verdacht auf Malignität biopsiert ¹⁶⁴. Die weitere adäquate Behandlung erfolgte dann gemäß den aktuellen Leitlinien, einschließlich der radikalen Prostatektomie. Nichtsdestoweniger zeigen unsere präoperativen Daten, dass die präoperative PSA-Dichte (ng/ml/cc) keinen Unterschied zwischen den Gruppen zeigte und auch den Schwellenwert für die exponentielle Zunahme des Risikos für Prostatakarzinome (i.e. 0,15 ng/ml/cc) aus unseren vorherigen Arbeiten nicht überschreitet und daher bei Patienten mit großen und größten Prostatavolumina ein zusätzlicher valider Parameter im präoperativen Screening ist ¹⁶³. Deshalb kann und sollte auch Patienten mit einem erhöhten Gesamt-PSA, nach vorangegangener Evaluation, die minimal-invasive Prostatadesobstruktion nicht vorenthalten werden.

Die Arbeitsgruppe des Habilitanden konnte bereits zeigen, dass enukleierende Verfahren der klassischen Resektion von Prostatagewebe hinsichtlich ihrer operativen Effizienz und postoperativen funktionellen Effektivität überlegen sind. Dies wird anhand eines direkten Vergleichs zwischen den beiden Enukleationsverfahren, HoLEP und der bipolaren Prostataenukreation (bTUEP), mit der klassischen Elektroresektion (TURP) deutlich ¹⁰². So bestätigen dies auch die Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeit: Alle Gruppen zeigen postoperativ – unabhängig von der Prostatagröße – eine deutliche und signifikante Verbesserung des Leidensdrucks (IPSS, QoL) sowie der funktionellen urodynamischen Parameter (Q_{max} , Restharn). In einer Subgruppenanalyse (Prostatavolumen <80 cc versus \geq 80

cc) konnten diese Ergebnisse ebenfalls bestätigt werden. Interessanterweise zeigt sich hier die Zunahme der Effizienz bei größeren Prostatavolumina noch deutlicher. So unterscheiden sich die beiden Subgruppen zwar in ihrer absoluten Enukleationszeit statistisch signifikant – jedoch klinisch irrelevant – um 8 Minuten im Median, zeigen aber eine Zunahme in der Enukleationsgeschwindigkeit um das 1,8-fache auf 2,21 g/min. In der Gruppe ≥ 120 cc sehen wir sogar eine Zunahme um das 2,5-fache auf 2,79 g/min verglichen mit Gruppe 1 (≤ 60 cc).

Das Sicherheitsprofil der HoLEP ist hier vergleichbar mit anderen Arbeiten aus der Gruppe des Habilitanden ^{101,102,162}. Während sich zwar ein statistisch signifikant höherer Blutverlust mit zunehmender Prostatagröße zeigt, ist dieser jedoch klinisch nicht relevant und perioperative Bluttransfusionen waren nicht notwendig. Der Abfall des Hämoglobinwertes ist eher Ausdruck einer Hämodilution als ein echter volumetrischer Blutverlust. Dies hat zwei plausible Gründe: Erstens führt eine größere Prostata zu einer deutlich vergrößerten Oberfläche der prostatistischen Fossa und zweitens nimmt die OP-Dauer mit der Prostatagröße zu. Beides führt zu einer vermehrten Flüssigkeitsresorption während der HoLEP und erhöht das Risiko einer Hämodilution über eine längere OP-Dauer ^{77,165}.

Schlussfolgerung

Die TURP gilt nach wie vor als Referenzmethode, an der sich alle minimal-invasiven Verfahren zur Prostatadesobstruktion messen müssen ^{70,117,119}. Die HoLEP ist bekanntermaßen effektiver als die TURP, da eine totale Enukleation, ähnlich der OAE, angestrebt wird ^{75,119}. In Zeiten limitierter Ressourcen und der zunehmenden Überalterung der Bevölkerung, werden immer häufiger Patienten mit LUTS/BPS aufgrund größter Prostatavolumina vorstellig werden. Gerade bei diesen Patienten zeigt sich die HoLEP als besonders ressourcensparend und nimmt in ihrer OP-Effizienz gerade bei größeren Prostatavolumina zu. Somit steht die HoLEP als funktionell äquivalentes, aber minimal-invasives, Verfahren dem leitliniengerechten Standard der invasiven OAE gegenüber. Gerade mit dieser Arbeit trägt die Arbeitsgruppe des Habilitanden signifikant zur aktuellen Literatur bei und kann hoffentlich die Akzeptanz lasergestützter Enukleationsverfahren als sichere Alternative zur TURP und OAE im Fachgebiet weiter erhöhen.

6 Zusammenfassung

Thalidomid und seine Derivate als aussichtsreiche Kandidaten in vivo

Die Arbeitsgruppe des Habilitanden konnte erstmals in der Literatur zeigen, dass die IMiDs Thalidomid, Lenalidomid und Pomalidomid einen weitreichenden inhibitorischen Effekt auf die kontraktile Mechanismen in der humanen Prostata haben. Sie hemmen sowohl die klassische, i.e. adrenerge, wie auch nicht-adrenerge (Thromboxan, Endothelin) und neurogene Kontraktion in humanen Prostatageweben. Beide Arbeiten zeigen, dass der starke inhibitorische Effekt auf eine Modulation des Aktinzytoskeletts zurückzuführen sein könnte, dessen korrekte Polymerisation Grundvoraussetzung für jegliche Art von Kontraktion ist. Weiter zeigen die Ergebnisse der hier vorliegenden Arbeiten auch, dass Thalidomid und seine Abkömmlinge, Lenalidomid und Pomalidomid, das Wachstum benigner Prostatastromazellen (WPMY-1) signifikant hemmen, ohne dabei zytotoxische Effekte auszuüben. Aufbauend auf den Ergebnissen zu den bis dato weitgehend unerforschten nicht-adrenergen kontraktile Mechanismen in der humanen Prostata, stellt die Arbeitsgruppe des Habilitanden nun also vielversprechende, klinisch anwendbare Monosubstanzen vor, die eine ubiquitäre Relaxation der Prostatamuskulatur herbeiführen könnten, während sie gleichzeitig das Prostatawachstum hemmen, und so auch in ihrer Effektivität den aktuellen Goldstandard der Therapie (α_1 -Blocker + 5-ARI) sogar noch übertreffen könnten.

HoLEP als Management des medikamentenrefraktären BPS

Westliche Industrienationen befinden sich in einer Zeit des demographischen Wandels. Mit zunehmender Überalterung der Bevölkerung steigt auch die Prävalenz benigner Prostataerkrankungen. Während sich die aktuell verfügbaren Medikamente vor allem durch ihre limitierte Wirksamkeit und unerwünschten Arzneimittelwirkungen auszeichnen, ist der Anteil medikamentenrefraktärer Patienten groß. Etwa die Hälfte aller Patienten, die sich zur minimal-invasiven Prostatadesobstruktion vorstellt, hat bereits mindestens ein LUTS-Medikament erfolglos eingenommen. Gerade im Hinblick auf ein immer älter werdendes Patientengut ist die Forschung auf dem Gebiet minimal-invasiver Operationstechniken unumgänglich. Der Durchschnittliche BPS-Patient ist 65 Jahre alt, hat damit ein erhöhtes Risiko

für Komorbiditäten und Polypharmazie, sodass er oftmals keine LUTS-Medikamente erhalten kann oder aber die Auswahl des entsprechenden Operationsverfahrens der besonderen Vulnerabilität dieses Patientenkollektivs angepasst werden muss. Obwohl die enukleierenden Laserverfahren den mit Abstand größten Zuwachs anteilig an allen Verfahren zur benignen Prostatadesobstruktion haben, werden sie immer noch selten und/oder nur an spezialisierten Zentren durchgeführt. Die Arbeitsgruppe des Habilitanden konnte mit den hier vorliegenden Arbeiten zeigen, dass 1.) die bekanntermaßen exzellenten funktionellen Ergebnisse der HoLEP nicht durch eine vorhergegangene bzw. aktive LUTS-Medikation beeinträchtigt werden, 2.) die HoLEP ein geeignetes Verfahren auch für die ältesten Patienten (≥ 80 Jahre) darstellt, und 3.) die HoLEP mit einem hervorragenden Sicherheitsprofil, einer herausragenden Effektivität und einer mit der Prostatagröße zunehmenden Effizienz einhergeht. Zusammenfassend hat die HoLEP also das Potenzial als neuer minimal-invasiver Goldstandard zur Therapie des medikamentenrefraktären BPS zu werden.

Mit der hier vorliegenden Habilitationsleistung trägt der Habilitand signifikant zur aktuellen Literatur bei und zeigt somit, dass er sein Fachgebiet klinisch und wissenschaftlich vollumfänglich vertreten kann.

7 Literaturverzeichnis

1. Gratzke C, Bachmann A, Descazeaud A, et al. EAU Guidelines on the Assessment of Non-neurogenic Male Lower Urinary Tract Symptoms including Benign Prostatic Obstruction. *Eur Urol* 2015;67:1099-109.
2. Oelke M, Kuczyk MA, Herrmann TR. [Pharmacological treatment of benign prostatic hyperplasia]. *Der Urologe Ausg A* 2009;48:1365-75; quiz 76-7.
3. Gratzke C, Stief CG. [Male lower urinary tract symptoms: the role of the prostate]. *MMW Fortschr Med* 2013;155:34.
4. Weinhold P, Magistro G, Strittmatter F, et al. [Etiology and diagnostics of the benign prostate syndrom]. *MMW Fortschr Med* 2013;155:35-8.
5. Roehrborn CG, Schwinn DA. Alpha1-adrenergic receptors and their inhibitors in lower urinary tract symptoms and benign prostatic hyperplasia. *The Journal of urology* 2004;171:1029-35.
6. Bschleipfer T, Bach T, Berges R, et al. [S2e guideline of the German urologists : Instrumental treatment of benign prostatic hyperplasia]. *Urologe A* 2016;55:195-207.
7. Hofner K, Bach T, Berges R, et al. [S2e guideline of the German urologists : Conservative and pharmacologic treatment of benign prostatic hyperplasia]. *Urologe A* 2016;55:184-94.
8. Chapple C. Overview on the lower urinary tract. *Handbook of experimental pharmacology* 2011:1-14.
9. Patel AK, Chapple CR. Medical management of lower urinary tract symptoms in men: current treatment and future approaches. *Nature clinical practice Urology* 2008;5:211-9.
10. Chapple CR, Montorsi F, Tammela TL, 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. *European urology* 2011;59:342-52.
11. Bschleipfer T, Wagenlehner F, Weidner W. [Etiology and pathogenesis of overactive bladder]. *Der Urologe Ausg A* 2011;50:477-80.
12. Oelke M, Bachmann A, Descazeaud A, et al. EAU guidelines on the treatment and follow-up of non-neurogenic male lower urinary tract symptoms including benign prostatic obstruction. *European urology* 2013;64:118-40.
13. Roosen A, Gratzke C, Herrlemann A, et al. [Etiology and pathophysiology of benign prostate hyperplasia]. *Der Urologe Ausg A* 2013;52:186-92.
14. Hampel C, Gillitzer R, Pahernik S, Hohenfellner M, Thuroff JW. [Epidemiology and etiology of overactive bladder]. *Der Urologe Ausg A* 2003;42:776-86.
15. Irwin DE, Milsom I, Hunskaar S, et al. Population-based survey of urinary incontinence, overactive bladder, and other lower urinary tract symptoms in five countries: results of the EPIC study. *European urology* 2006;50:1306-14; discussion 14-5.
16. Sjoqvist F, Eriksson LO, Andersson KE. Merck fellowships contribute to the continued growth of clinical pharmacology in Sweden. *European journal of clinical pharmacology* 2007;63:229-31.
17. Berges R. [Treatment of LUTS in BPS. When and when not to administer pills?]. *Der Urologe Ausg A* 2009;48:257-63.
18. Andersson KE. LUTS treatment: future treatment options. *Neurourology and urodynamics* 2007;26:934-47.

19. Burnett AL, Wein AJ. Benign prostatic hyperplasia in primary care: what you need to know. *The Journal of urology* 2006;175:S19-24.
20. Hennenberg M, Stief CG, Gratzke C. Prostatic alpha1-adrenoceptors: new concepts of function, regulation, and intracellular signaling. *Neurourology and urodynamics* 2014;33:1074-85.
21. Andersson KE, Lepor H, Wyllie MG. Prostatic alpha 1-adrenoceptors and uroselectivity. *The Prostate* 1997;30:202-15.
22. Hutchison A, Farmer R, Verhamme K, Berges R, Navarrete RV. The efficacy of drugs for the treatment of LUTS/BPH, a study in 6 European countries. *European urology* 2007;51:207-15; discussion 15-6.
23. Turer AT, Schwinn DA. Understanding the transition to acute illness: the promise of perioperative genomics. *Journal of cardiovascular translational research* 2008;1:171-3.
24. Madersbacher S, Michel MC, Dreikorn K. [Contemporary medical management of the benign prostatic syndrome]. *Der Urologe Ausg A* 2008;47:166-71.
25. Madersbacher S, Marszalek M, Lackner J, Berger P, Schatzl G. The long-term outcome of medical therapy for BPH. *European urology* 2007;51:1522-33.
26. Benken N, Wienhold, D., Thuroff, J. W. TUIP. In: Höfner K, Stief, C. G., Jonas, U., ed. *Benigne Prostatahyperplasie*: Springer; 2000.
27. Timms BG, Hofkamp LE. Prostate development and growth in benign prostatic hyperplasia. *Differentiation; research in biological diversity* 2011;82:173-83.
28. Pattarozzi A, Gatti M, Barbieri F, et al. 17beta-estradiol promotes breast cancer cell proliferation-inducing stromal cell-derived factor-1-mediated epidermal growth factor receptor transactivation: reversal by gefitinib pretreatment. *Molecular pharmacology* 2008;73:191-202.
29. De Nunzio C, Tubaro A. Benign prostatic hyperplasia in 2014: Innovations in medical and surgical treatment. *Nat Rev Urol* 2015;12:76-8.
30. Malaeb BS, Yu X, McBean AM, Elliott SP. National trends in surgical therapy for benign prostatic hyperplasia in the United States (2000-2008). *Urology* 2012;79:1111-6.
31. Andersson KE. Muscarinic acetylcholine receptors in the urinary tract. *Handbook of experimental pharmacology* 2011:319-44.
32. Michel MC, Vrydag W. Alpha1-, alpha2- and beta-adrenoceptors in the urinary bladder, urethra and prostate. *Br J Pharmacol* 2006;147 Suppl 2:S88-119.
33. Christ GJ, Andersson KE. Rho-kinase and effects of Rho-kinase inhibition on the lower urinary tract. *Neurourol Urodyn* 2007;26:948-54.
34. Yamada S, Ito Y. alpha(1)-Adrenoceptors in the urinary tract. *Handbook of experimental pharmacology* 2011:283-306.
35. Zhang X, DiSanto ME. Rho-kinase, a common final path of various contractile bladder and ureter stimuli. *Handbook of experimental pharmacology* 2011:543-68.
36. Hennenberg M, Acevedo A, Wiemer N, et al. Non-Adrenergic, Tamsulosin-Insensitive Smooth Muscle Contraction is Sufficient to Replace alpha1 -Adrenergic Tension in the Human Prostate. *The Prostate* 2017;77:697-707.
37. Bschiepfer T, Bach T, Berges R, et al. [S2e guideline of the German urologists: Instrumental treatment of benign prostatic hyperplasia]. *Der Urologe Ausg A* 2016;55:195-207.
38. Fullhase C, Chapple C, Cornu JN, et al. Systematic review of combination drug therapy for non-neurogenic male lower urinary tract symptoms. *European urology* 2013;64:228-43.
39. Lee SH, Byun SS, Lee SJ, Kim KH, Lee JY. Effects of initial combined tamsulosin and solifenacin therapy for overactive bladder and bladder outlet obstruction secondary to benign

prostatic hyperplasia: a prospective, randomized, multicenter study. *Int Urol Nephrol* 2014;46:523-9.

40. Cindolo L, Pirozzi L, Fanizza C, 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. *European urology* 2014.
41. Cindolo L, Pirozzi L, Sountoulides P, et al. Patient's adherence on pharmacological therapy for benign prostatic hyperplasia (BPH)-associated lower urinary tract symptoms (LUTS) is different: is combination therapy better than monotherapy? *BMC Urol* 2015;15:96.
42. Wang Y, Gratzke C, Tamalunas A, et al. P21-Activated Kinase Inhibitors FRAX486 and IPA3: Inhibition of Prostate Stromal Cell Growth and Effects on Smooth Muscle Contraction in the Human Prostate. *PloS one* 2016;11:e0153312.
43. Huang JS, Ramamurthy SK, Lin X, Le Breton GC. Cell signalling through thromboxane A2 receptors. *Cellular signalling* 2004;16:521-33.
44. Nakahata N. Thromboxane A2: physiology/pathophysiology, cellular signal transduction and pharmacology. *Pharmacology & therapeutics* 2008;118:18-35.
45. Shen RF, Tai HH. Thromboxanes: synthase and receptors. *Journal of biomedical science* 1998;5:153-72.
46. Langenstroer P, Tang R, Shapiro E, Divish B, Opgenorth T, Lepor H. Endothelin-1 in the human prostate: tissue levels, source of production and isometric tension studies. *The Journal of urology* 1993;150:495-9.
47. Saita Y, Koizumi T, Yazawa H, Morita T, Takenaka T, Honda K. Endothelin receptors and their cellular signal transduction mechanism in human cultured prostatic smooth muscle cells. *British journal of pharmacology* 1997;121:687-94.
48. Hennenberg M, Miljak M, Herrmann D, et al. The receptor antagonist picotamide inhibits adrenergic and thromboxane-induced contraction of hyperplastic human prostate smooth muscle. *American journal of physiology Renal physiology* 2013;305:F1383-90.
49. Höfner K, Stief, C. G., Jonas, U. *Benigne Prostatahyperplasie*: Springer; 2000.
50. Böcker W, Denk, H., Heitz, P.H. *Pathologie*. München: Urban & Fischer; 2008.
51. Schweikert H, Tunn, U. *Endokrinologie*. In: Höfner K, Stief, C. G., Jonas, U., ed. *Benigne Prostatahyperplasie*: Springer; 2000.
52. Sampson N, Untergasser G, Plas E, Berger P. The ageing male reproductive tract. *The Journal of pathology* 2007;211:206-18.
53. Lee HN, Lee KS, Kim JC, et al. Rate and associated factors of solifenacin add-on after tamsulosin monotherapy in men with voiding and storage lower urinary tract symptoms. *International journal of clinical practice* 2015;69:444-53.
54. Hofner K, Oelke M. [Medical combination therapy in LUTS suggestive of BPH]. *Der Urologe Ausg A* 2009;48:250-6.
55. Gratzke C, Strittmatter F, Reich O, Bachmann A, Stief CG, Seitz M. [Surgical treatment of male lower urinary tract symptoms (LUTS)]. *Der Urologe Ausg A* 2012;51:1297-306; quiz 307.
56. Hellmis E, Engelberg, S., Jacobi, G. Minimal invasive instrumentelle Verfahren zur Behandlung der benignen Prostatavergrößerung. In: Pöttsch D, ed. *Praxis der Männergesundheit*. Stuttgart: Thieme; 2003:270-9.
57. McNeal J. Pathology of benign prostatic hyperplasia. Insight into etiology. *Urol Clin North Am* 1990;17:477-86.
58. Foo KT. Pathophysiology of clinical benign prostatic hyperplasia. *Asian J Urol* 2017;4:152-7.

59. Shapiro E, Lepor H. Pathophysiology of clinical benign prostatic hyperplasia. *Urol Clin North Am* 1995;22:285-90.
60. Fusco F, Creta M, De Nunzio C, Gacci M, Li Marzi V, Finazzi Agro E. Alpha-1 adrenergic antagonists, 5-alpha reductase inhibitors, phosphodiesterase type 5 inhibitors, and phytotherapeutic compounds in men with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic obstruction: A systematic review and meta-analysis of urodynamic studies. *Neurourology and urodynamics* 2018.
61. Gravas S, Cornu, J. N., Drake, M. J., Gacci, M., Gratzke, C., Herrmann, T. R. W., Madersbacher, S., Mamoulakis, C., Tikkinen, K. A. O. Management of Non-neurogenic Male LUTS. EAU Guidelines Edn presented at the EAU Annual Congress Copenhagen 2018 ISBN 978-94-92671-01-1 2018.
62. Loeb S, Kettermann A, Carter HB, Ferrucci L, Metter EJ, Walsh PC. Prostate volume changes over time: results from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *The Journal of urology* 2009;182:1458-62.
63. Gazala S, Tul Y, Wagg A, et al. Quality of life and long-term outcomes of octo- and nonagenarians following acute care surgery: a cross sectional study. *World J Emerg Surg* 2013;8:23.
64. Michel MC, Mehlburger L, Bressel HU, Schumacher H, Schafers RF, Goepel M. Tamsulosin treatment of 19,365 patients with lower urinary tract symptoms: does comorbidity alter tolerability? *The Journal of urology* 1998;160:784-91.
65. Becher KF, Madersbacher S, Michel MC, Olbert P. [Management of geriatric patients with benign prostatic hyperplasia]. *Der Urologe Ausg A* 2020;59:1195-203.
66. Masnoon N, Shakib S, Kalisch-Ellett L, Caughey GE. What is polypharmacy? A systematic review of definitions. *BMC Geriatr* 2017;17:230.
67. Becher E, Roehrborn CG, Siami P, Gagnier RP, Wilson TH, Montorsi F. The effects of dutasteride, tamsulosin, and the combination on storage and voiding in men with benign prostatic hyperplasia and prostatic enlargement: 2-year results from the Combination of Avodart and Tamsulosin study. *Prostate cancer and prostatic diseases* 2009;12:369-74.
68. Michel MC, Mehlburger L, Bressel HU, Goepel M. Comparison of tamsulosin efficacy in subgroups of patients with lower urinary tract symptoms. *Prostate cancer and prostatic diseases* 1998;1:332-5.
69. Strobe SA, Vetter J, Elliott S, Andriole GL, Olsen MA. Use of Medical Therapy and Success of Laser Surgery and Transurethral Resection of the Prostate for Benign Prostatic Hyperplasia. *Urology* 2015;86:1115-22.
70. Gilling PJ, Cass CB, Cresswell MD, Fraundorfer MR. Holmium laser resection of the prostate: preliminary results of a new method for the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Urology* 1996;47:48-51.
71. Suardi N, Gallina A, Salonia A, et al. Holmium laser enucleation of the prostate and holmium laser ablation of the prostate: indications and outcome. *Current opinion in urology* 2009;19:38-43.
72. Ahyai SA, Gilling P, Kaplan SA, et al. Meta-analysis of functional outcomes and complications following transurethral procedures for lower urinary tract symptoms resulting from benign prostatic enlargement. *European urology* 2010;58:384-97.
73. Ibrahim A, Alharbi M, Elhilali MM, Aube M, Carrier S. 18 Years of Holmium Laser Enucleation of the Prostate: A Single Center Experience. *The Journal of urology* 2019;202:795-800.

74. Magistro G, Westhofen T, Stief CG, Weinhold P. A matched-pair analysis of patients with medium-sized prostates (50 cc) treated for male LUTS with HoLEP or TURP. *Low Urin Tract Symptoms* 2020;12:117-22.
75. Kuntz RM, Lehrich K, Ahyai SA. 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. *European urology* 2008;53:160-6.
76. Humphreys MR, Miller NL, Handa SE, Terry C, Munch LC, Lingeman JE. Holmium laser enucleation of the prostate--outcomes independent of prostate size? *The Journal of urology* 2008;180:2431-5; discussion 5.
77. Westhofen T, Weinhold P, Kolb M, Stief CG, Magistro G. Evaluation of Holmium Laser Enucleation of the Prostate Learning Curves with and without a Structured Training Programme. *Curr Urol* 2020;14:191-9.
78. Leicht H FC, Gilfrich C, Jeschke E, Popken G, Stolzenburg J, Weißbach L, Zastrow C, Günster C. Versorgungs-Report 2015/2016. Schattauer (Stuttgart) 2016:p. 366-88.
79. Pradidarcheep W, Wallner C, Dabhoiwala NF, Lamers WH. Anatomy and histology of the lower urinary tract. *Handbook of experimental pharmacology* 2011:117-48.
80. Shaikhibrahim Z, Lindstrot A, Ellinger J, et al. The peripheral zone of the prostate is more prone to tumor development than the transitional zone: is the ETS family the key? *Molecular medicine reports* 2012;5:313-6.
81. Alcaraz A, Hammerer P, Tubaro A, Schroder FH, Castro R. Is there evidence of a relationship between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer? Findings of a literature review. *European urology* 2009;55:864-73.
82. Orsted DD, Bojesen SE. The link between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Nature reviews Urology* 2013;10:49-54.
83. Hennenberg M, Tamalunas A, Wang Y, et al. Inhibition of agonist-induced smooth muscle contraction by picotamide in the male human lower urinary tract outflow region. *European journal of pharmacology* 2017;803:39-47.
84. Puck TT, Marcus PI. Action of x-rays on mammalian cells. *J Exp Med* 1956;103:653-66.
85. Rafahi H, Orłowski C, Georgiadis GT, Ververis K, El-Osta A, Karagiannis TC. Clonogenic assay: adherent cells. *J Vis Exp* 2011.
86. Michel MC, Murphy TJ, Motulsky HJ. New Author Guidelines for Displaying Data and Reporting Data Analysis and Statistical Methods in Experimental Biology. *Mol Pharmacol* 2020;97:49-60.
87. Curtis MJ, Alexander S, Cirino G, et al. Experimental design and analysis and their reporting II: updated and simplified guidance for authors and peer reviewers. *Br J Pharmacol* 2018;175:987-93.
88. Curtis MJ, Bond RA, Spina D, et al. Experimental design and analysis and their reporting: new guidance for publication in BJP. *Br J Pharmacol* 2015;172:3461-71.
89. Gilling PJ, Cass CB, Cresswell MD, Malcolm AR, Fraundorfer MR. The use of the holmium laser in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *J Endourol* 1996;10:459-61.
90. Cornu JN, Ahyai S, Bachmann A, et al. A Systematic Review and Meta-analysis of Functional Outcomes and Complications Following Transurethral Procedures for Lower Urinary Tract Symptoms Resulting from Benign Prostatic Obstruction: An Update. *European urology* 2015;67:1066-96.
91. Oh SJ. Current surgical techniques of enucleation in holmium laser enucleation of the prostate. *Investig Clin Urol* 2019;60:333-42.
92. Clavien PA, Barkun J, de Oliveira ML, et al. The Clavien-Dindo classification of surgical complications: five-year experience. *Ann Surg* 2009;250:187-96.

93. Dindo D, Demartines N, Clavien PA. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Ann Surg* 2004;240:205-13.
94. Mamoulakis C, Efthimiou I, Kazoulis S, Christoulakis I, Sofras F. The modified Clavien classification system: a standardized platform for reporting complications in transurethral resection of the prostate. *World journal of urology* 2011;29:205-10.
95. Tamalunas A, Sauckel C, Ciotkowska A, et al. Inhibition of human prostate stromal cell growth and smooth muscle contraction by thalidomide: A novel remedy in LUTS? *The Prostate* 2021.
96. Tamalunas A, Sauckel C, Ciotkowska A, et al. Lenalidomide and pomalidomide inhibit growth of prostate stromal cells and human prostate smooth muscle contraction. *Life sciences* 2021;281:119771.
97. Tamalunas A, Sauckel C, Ciotkowska A, et al. Inhibition of human prostate stromal cell growth and smooth muscle contraction by thalidomide: A novel remedy in LUTS? *The Prostate* 2021;81:377-89.
98. Barry MJ, Williford WO, Chang Y, et al. Benign prostatic hyperplasia specific health status measures in clinical research: how much change in the American Urological Association symptom index and the benign prostatic hyperplasia impact index is perceptible to patients? *The Journal of urology* 1995;154:1770-4.
99. Naslund MJ, Miner M. A review of the clinical efficacy and safety of 5alpha-reductase inhibitors for the enlarged prostate. *Clin Ther* 2007;29:17-25.
100. Lee KH, Kuo HC. Recovery of Voiding Efficiency and Bladder Function in Male Patients With Non-neurogenic Detrusor Underactivity After Transurethral Bladder Outlet Surgery. *Urology* 2019;123:235-41.
101. Tamalunas A, Westhofen T, Schott M, et al. The clinical value of holmium laser enucleation of the prostate in octogenarians. *Low Urin Tract Symptoms* 2020.
102. Magistro G, Schott M, Keller P, et al. Enucleation vs. Resection: A Matched-pair Analysis of TURP, HoLEP and Bipolar TUEP in Medium-sized Prostates. *Urology* 2021.
103. Bansal A, Arora A. Transurethral Resection of Prostate and Bleeding: A Prospective, Randomized, Double-Blind Placebo-Controlled Trial to See the Efficacy of Short-Term Use of Finasteride and Dutasteride on Operative Blood Loss and Prostatic Microvessel Density. *J Endourol* 2017;31:910-7.
104. Zhu YP, Dai B, Zhang HL, Shi GH, Ye DW. Impact of preoperative 5alpha-reductase inhibitors on perioperative blood loss in patients with benign prostatic hyperplasia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Urol* 2015;15:47.
105. Steinmeyer Z, Delpierre C, Soriano G, et al. Hemoglobin concentration; a pathway to frailty. *BMC Geriatr* 2020;20:202.
106. Donoghue TJ. Assessing Frailty and Its Implications on Anesthesia Care and Postoperative Outcomes in Surgical Patients. *AANA J* 2019;87:152-9.
107. Aldamanhori R, Chapple CR. Underactive bladder, detrusor underactivity, definition, symptoms, epidemiology, etiopathogenesis, and risk factors. *Current opinion in urology* 2017;27:293-9.
108. Welk B, McGarry P, Baverstock R, Carlson K, Hickling D. Do Urodynamic Findings Other Than Outlet Obstruction Influence the Decision to Perform a Transurethral Resection of Prostate? *Urology* 2018;117:120-5.
109. Roehrborn CG. Benign prostatic hyperplasia: an overview. *Reviews in urology* 2005;7 Suppl 9:S3-S14.

110. Simon RM, Howard LE, Moreira DM, et al. Does Prostate Size Predict the Development of Incident Lower Urinary Tract Symptoms in Men with Mild to No Current Symptoms? Results from the REDUCE Trial. *European urology* 2016;69:885-91.
111. Roehrborn CG. Prostate size: does it matter? *Reviews in urology* 2000;2:95-8.
112. Gacci M, Corona G, Vignozzi L, et al. Metabolic syndrome and benign prostatic enlargement: a systematic review and meta-analysis. *BJU international* 2015;115:24-31.
113. Wright EJ, Fang J, Metter EJ, et al. Prostate specific antigen predicts the long-term risk of prostate enlargement: results from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *The Journal of urology* 2002;167:2484-7; discussion 7-8.
114. Magistro G, Keller P, Westhofen T, et al. The significance of a high preoperative PSA level for the detection of incidental prostate cancer in LUTS patients with large prostates. *World journal of urology* 2020.
115. Roehrborn CG. Acute urinary retention: risks and management. *Reviews in urology* 2005;7 Suppl 4:S31-41.
116. Elzayat EA, Elhilali MM. Holmium laser enucleation of the prostate (HoLEP): the endourologic alternative to open prostatectomy. *European urology* 2006;49:87-91.
117. Park S, Kwon T, Park S, Moon KH. Efficacy of Holmium Laser Enucleation of the Prostate in Patients with a Small Prostate (≤ 30 mL). *World J Mens Health* 2017;35:163-9.
118. McVary KT, Roehrborn CG, Avins AL, et al. Update on AUA guideline on the management of benign prostatic hyperplasia. *The Journal of urology* 2011;185:1793-803.
119. Das AK, Han TM, Hardacker TJ. Holmium laser enucleation of the prostate (HoLEP): size-independent gold standard for surgical management of benign prostatic hyperplasia. *Can J Urol* 2020;27:44-50.
120. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, et al. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1989;86:2863-7.
121. Yanagisawa M, Inoue A, Ishikawa T, et al. Primary structure, synthesis, and biological activity of rat endothelin, an endothelium-derived vasoconstrictor peptide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1988;85:6964-7.
122. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332:411-5.
123. Sokolovsky M. Endothelins and sarafotoxins: physiological regulation, receptor subtypes and transmembrane signaling. *Trends in biochemical sciences* 1991;16:261-4.
124. Tao W, Prasanna G, Dimitrijevic S, Yorio T. Endothelin receptor A is expressed and mediates the $[Ca^{2+}]_i$ mobilization of cells in human ciliary smooth muscle, ciliary nonpigmented epithelium, and trabecular meshwork. *Current eye research* 1998;17:31-8.
125. Hiraoka Y, Oshita M, Morikawa K, et al. Characterization of the endothelin receptor subtypes in human prostate. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;36:S252-4.
126. Takahashi R, Nishimura J, Seki N, et al. RhoA/Rho kinase-mediated Ca^{2+} sensitization in the contraction of human prostate. *Neurourology and urodynamics* 2007;26:547-51.
127. Walden PD, Ittmann M, Monaco ME, Lepor H. Endothelin-1 production and agonist activities in cultured prostate-derived cells: implications for regulation of endothelin bioactivity and bioavailability in prostatic hyperplasia. *The Prostate* 1998;34:241-50.
128. Webb DJ. Endogenous endothelin generation maintains vascular tone in humans. *Journal of human hypertension* 1995;9:459-63.

129. Ishigooka M, Yazawa H, Nakada T, Zermann DH. Area density of smooth muscle cells and response to endothelin 1 in human hyperplastic prostate. *European urology* 2000;37:494-8.
130. Ukai M, Yuyama H, Fujimori A, 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. *European journal of pharmacology* 2008;580:394-400.
131. Yu Q, Gratzke C., Wang, Y., Wang, X., Li, B., Strittmatter, F., Herlemann A., Wang, R., Tamalunas, A., Waidelich, R., Stief, C. G., Hennenberg, M. New strategies for inhibition of non-adrenergic prostate smooth muscle contraction by pharmacologic intervention. *The Prostate*, in press 2019.
132. Wang X, Li B, Ciotkowska A, et al. Onvansertib, a polo-like kinase 1 inhibitor, inhibits prostate stromal cell growth and prostate smooth muscle contraction, which is additive to inhibition by alpha1-blockers. *European journal of pharmacology* 2020:172985.
133. Hennenberg M, Kuppermann P, Yu Q, et al. Inhibition of Prostate Smooth Muscle Contraction by Inhibitors of Polo-Like Kinases. *Front Physiol* 2018;9:734.
134. Hennenberg M, Schott M, Kan A, et al. Inhibition of Adrenergic and Non-Adrenergic Smooth Muscle Contraction in the Human Prostate by the Phosphodiesterase 10-Selective Inhibitor TC-E 5005. *The Prostate* 2016;76:1364-74.
135. Herlemann A, Keller P, Schott M, et al. Inhibition of smooth muscle contraction and ARF6 activity by the inhibitor for cytohesin GEFs, secinH3, in the human prostate. *American journal of physiology Renal physiology* 2018;314:F47-F57.
136. Mellin GW, Katzenstein M. The saga of thalidomide. Neuropathy to embryopathy, with case reports of congenital anomalies. *The New England journal of medicine* 1962;267:1238-44 concl.
137. Joglekar S, Levin M. The promise of thalidomide: evolving indications. *Drugs Today (Barc)* 2004;40:197-204.
138. Madan RA, Karzai FH, Ning YM, et al. Phase II trial of docetaxel, bevacizumab, lenalidomide and prednisone in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *BJU international* 2016;118:590-7.
139. Moehler T. Clinical experience with thalidomide and lenalidomide in multiple myeloma. *Curr Cancer Drug Targets* 2012;12:372-90.
140. Walker SL, Waters MF, Lockwood DN. The role of thalidomide in the management of erythema nodosum leprosum. *Lepr Rev* 2007;78:197-215.
141. Sales AM, de Matos HJ, Nery JA, Duppre NC, Sampaio EP, Sarno EN. Double-blind trial of the efficacy of pentoxifylline vs thalidomide for the treatment of type II reaction in leprosy. *Braz J Med Biol Res* 2007;40:243-8.
142. Leonard GD, Dahut WL, Gulley JL, Arlen PM, Figg WD. Docetaxel and thalidomide as a treatment option for androgen- independent, nonmetastatic prostate cancer. *Reviews in urology* 2003;5 Suppl 3:S65-70.
143. Eichner R, Heider M, Fernandez-Saiz V, et al. Immunomodulatory drugs disrupt the cereblon-CD147-MCT1 axis to exert antitumor activity and teratogenicity. *Nat Med* 2016;22:735-43.
144. Fujita K, Asami Y, Murata E, Akita M, Kaneko K. Effects of thalidomide, cytochrome P-450 and TNF-alpha on angiogenesis in a three-dimensional collagen gel-culture. *Okajimas Folia Anat Jpn* 2002;79:101-6.
145. Arai H, Furusu A, Nishino T, et al. Thalidomide prevents the progression of peritoneal fibrosis in mice. *Acta Histochem Cytochem* 2011;44:51-60.

146. Lv P, Meng Q, Liu J, Wang C. Thalidomide Accelerates the Degradation of Extracellular Matrix in Rat Hepatic Cirrhosis via Down-Regulation of Transforming Growth Factor-beta1. *Yonsei Med J* 2015;56:1572-81.
147. Liu X, Qian L, Nan H, Cui M, Hao X, Du Y. Function of the transforming growth factor-beta1/c-Jun N-terminal kinase signaling pathway in the action of thalidomide on a rat model of pulmonary fibrosis. *Exp Ther Med* 2014;7:669-74.
148. Lee YK, Chung SK. The inhibitory effect of thalidomide analogue on corneal neovascularization in rabbits. *Cornea* 2013;32:1142-8.
149. De Nunzio C, Presicce F, Tubaro A. Inflammatory mediators in the development and progression of benign prostatic hyperplasia. *Nature reviews Urology* 2016;13:613-26.
150. Ho CK, Habib FK. Estrogen and androgen signaling in the pathogenesis of BPH. *Nature reviews Urology* 2011;8:29-41.
151. Wong L, Gipp J, Carr J, et al. Prostate angiogenesis in development and inflammation. *The Prostate* 2014;74:346-58.
152. Timme TL, Yang G, Truong LD, Kadmon D, Park SH, Thompson TC. Transforming growth factor-beta localization during mouse prostate morphogenesis and in prostatic growth abnormalities. *World journal of urology* 1995;13:324-8.
153. Balint B, Yin H, Chakrabarti S, Chu MW, Sims SM, Pickering JG. Collectivization of Vascular Smooth Muscle Cells via TGF-beta-Cadherin-11-Dependent Adhesive Switching. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2015;35:1254-64.
154. Fernandez-Martinez E, Ponce-Monter H, Soria-Jasso LE, et al. Inhibition of Uterine Contractility by Thalidomide Analogs via Phosphodiesterase-4 Inhibition and Calcium Entry Blockade. *Molecules* 2016;21.
155. Seto SW, Bexis S, McCormick PA, Docherty JR. Actions of thalidomide in producing vascular relaxations. *European journal of pharmacology* 2010;644:113-9.
156. Seto SW, Docherty JR. Effects of T-type calcium channel blockers and thalidomide on contractions of rat vas deferens. *British journal of pharmacology* 2010;159:1211-6.
157. Giuliano F, Uckert S, Maggi M, Birder L, Kissel J, Viktrup L. The mechanism of action of phosphodiesterase type 5 inhibitors in the treatment of lower urinary tract symptoms related to benign prostatic hyperplasia. *European urology* 2013;63:506-16.
158. Fibbi B, Morelli A, Vignozzi L, et al. Characterization of phosphodiesterase type 5 expression and functional activity in the human male lower urinary tract. *The journal of sexual medicine* 2010;7:59-69.
159. Sebastianelli A, Spatafora P, Morselli S, et al. Tadalafil Alone or in Combination with Tamsulosin for the Management for LUTS/BPH and ED. *Curr Urol Rep* 2020;21:56.
160. Ali TF, Warkentin LM, Gazala S, et al. Self-Reported Outcomes in Individuals Aged 65 and Older Admitted for Treatment to an Acute Care Surgical Service: A 6-Month Prospective Cohort Study. *J Am Geriatr Soc* 2015;63:2388-94.
161. Roehrborn CG. Pathology of benign prostatic hyperplasia. *International journal of impotence research* 2008;20 Suppl 3:S11-8.
162. Westhofen T, Schott M, Keller P, Tamalunas A, Stief C, Magistro G. Superiority of HoLEP over TURP in a matched-pair analysis of bleeding complications under various antithrombotic regimens. *J Endourol* 2020.
163. Herlemann A, Wegner K, Roosen A, et al. "Finding the needle in a haystack": oncologic evaluation of patients treated for LUTS with holmium laser enucleation of the prostate (HoLEP) versus transurethral resection of the prostate (TURP). *World journal of urology* 2017;35:1777-82.

164. Stark T, Livas L, Kyprianou N. Inflammation in prostate cancer progression and therapeutic targeting. *Transl Androl Urol* 2015;4:455-63.
165. Shah HN, Kausik V, Hegde S, Shah JN, Bansal MB. Evaluation of fluid absorption during holmium laser enucleation of prostate by breath ethanol technique. *The Journal of urology* 2006;175:537-40.

8 Publikationsliste

8.1 Originalarbeiten aus der Habilitationsleistung

1. *Holmium laser enucleation of the prostate: a truly size-independent method?*
Tamalunas A, Westhofen T, Schott M, Keller P, Atzler M, Stief CG, Magistro G.
Low Urin Tract Symptoms. 2021. doi: 10.1111/luts.12404. In press.
2. *The impact of preoperative LUTS medication on the functional performance of holmium laser enucleation of the prostate.*
Tamalunas A, Westhofen T, Schott M, Keller P, Atzler M, Stief CG, Magistro G.
Cent European J Urol. 2021. In press.
3. *Lenalidomide and pomalidomide inhibit growth of prostate stromal cells and human prostate smooth muscle contraction.*
Tamalunas A, Sauckel C, Ciotkowska A, Rutz B, Wang R, Li B, Ru H, Stief CG, Gratzke C, Hennenberg M.
Life Sci. 2021 Jun 26:119771. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119771. Online ahead of print.
4. *Inhibition of Human Prostate Stromal Cell Growth and Smooth Muscle Contraction by Thalidomide: A Novel Remedy in LUTS?*
Tamalunas A, Sauckel C, Ciotkowska A, Rutz B, Li B, Stief CG, Gratzke C, Hennenberg M.
Prostate. 2021 May;81(7):377-389. doi: 10.1002/pros.24114. Epub 2021 Mar 9.
5. *The clinical value of holmium laser enucleation of the prostate in octogenarians.*
Tamalunas A, Westhofen T, Schott M, Keller P, Atzler M, Stief CG, Magistro G.
Low Urin Tract Symptoms. 2020 Dec 1. Doi: 10.1111/luts.12366. Online ahead of print.

8.2 Originalarbeiten als Erst- oder Letztautor

1. *Holmium laser enucleation of the prostate: a truly size-independent method?*
Tamalunas A, Westhofen T, Schott M, Keller P, Atzler M, Stief CG, Magistro G.
Low Urin Tract Symptoms. 2021. doi: 10.1111/luts.12404. In press.
2. *The impact of preoperative LUTS medication on the functional performance of holmium laser enucleation of the prostate.*
Tamalunas A, Westhofen T, Schott M, Keller P, Atzler M, Stief CG, Magistro G.
Cent European J Urol. 2021. In press.

3. *Lenalidomide and pomalidomide inhibit growth of prostate stromal cells and human prostate smooth muscle contraction.*
Tamalunas A, Sauckel C, Ciotkowska A, Rutz B, Wang R, Li B, Ru H, Stief CG, Gratzke C, Hennenberg M.
 Life Sci. 2021 Jun 26:119771. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119771. Online ahead of print.
4. *Choosing a specialist: An Explanatory Study of Factors Influencing Patients in Choosing a Urologist.*
Tamalunas A, Buchner A, Hennenberg M, Stadelmeier L, Höhn H, Vilsmaier T, Mumm ML, Kolben T, Stief CG, Mumm JN.
 Urol Int. 2021 Jul 16:1-8. doi: 10.1159/000517291. Online ahead of print.
5. *Inhibition of Human Prostate Stromal Cell Growth and Smooth Muscle Contraction by Thalidomide: A Novel Remedy in LUTS?*
Tamalunas A, Sauckel C, Ciotkowska A, Rutz B, Li B, Stief CG, Gratzke C, Hennenberg M.
 Prostate. 2021 May;81(7):377-389. doi: 10.1002/pros.24114. Epub 2021 Mar 9.
6. *The clinical value of holmium laser enucleation of the prostate in octogenarians.*
Tamalunas A, Westhofen T, Schott M, Keller P, Atzler M, Stief CG, Magistro G.
 Low Urin Tract Symptoms. 2020 Dec 1. Doi: 10.1111/luts.12366. Online ahead of print.
7. *Is It Safe to Offer Radical Cystectomy to Patients above 85 Years of Age? A Long-Term Follow-Up in a Single-Center Institution.*
Tamalunas A*, Volz Y*, Schlenker BA, Buchner A, Kretschmer A, Jokisch F, Rodler S, Schulz G, Eismann L, Pfitzinger P, Stief CG, Grimm T. **geteilte Autorenschaft*
 Urol Int. 2020 Sep 1:1-7. doi: 10.1159/000510137. Epub 2020 Sep 1.
8. *Impact of Routine Laboratory Parameters in Patients Undergoing Radical Cystectomy for Urothelial Carcinoma of the Bladder: A Long-Term Follow-Up.*
Tamalunas A, Buchner A, Kretschmer A, Jokisch F, Schulz G, Eismann L, Stief CG, Grimm T.
 Urol Int. 2020 Feb 28:1-8. doi: 10.1159/000506263. Epub 2020 Feb 28.

8.3 Originalarbeiten als Koautor

1. *Concentration-dependent alpha1-adrenoceptor antagonism and inhibition of neurogenic smooth muscle contraction by mirabegron in the human prostate*
 Huang R, Liu Y, Ciotkowska A, **Tamalunas A**, Waidelich R, Strittmatter F, Stief CG, Hennenberg M.
 Front Pharmacol. 2021. In press.
2. *Enucleation vs. Resection: A Matched-pair Analysis of TURP, HoLEP and Bipolar TUEP in Medium-sized Prostates.*
 Magistro G, Schott M, Keller P, **Tamalunas A**, Atzler M, Stief CG, Westhofen T.
 Urology. 2021 Apr 21:S0090-4295(21)00329-0. doi: 10.1016/j.urology.2021.04.004.

3. *Safety and Efficacy of Robotic Radiosurgery for Visceral and Lymph Node Metastases of Renal Cell Carcinoma: A Retrospective, Single Center Analysis.*
Rodler S, Schott M, **Tamalunas A**, Marcon J, Graser A, Mumm JN, Casuscelli J, Stief CG, Fürweger C, Muacevic A, Staehler M.
Cancers (Basel). 2021 Feb 8;13(4):680. doi: 10.3390/cancers13040680.
4. *Routine application of next-generation sequencing in uro-oncology-Are we ready for the next step of personalized medicine?*
Rodler S, Jung A, Greif PA, Rühlmann K, Apfelbeck M, **Tamalunas A**, Kretschmer A, Schulz GB, Szabados B, Stief C, Heinemann V, Westphalen CB, Casuscelli J.
Eur J Cancer. 2021 Jan 31;146:1-10. doi: 10.1016/j.ejca.2020.12.024. Online ahead of print.
5. *Superiority of Holmium Laser Enucleation of the Prostate over Transurethral Resection of the Prostate in a Matched-Pair Analysis of Bleeding Complications Under Various Antithrombotic Regimes.*
Westhofen T, Schott M, Keller P, **Tamalunas A**, Stief CG, Magistro G.
J Endourol. 2021 Jan 21. doi: 10.1089/end.2020.0321. Online ahead of print.
6. *The significance of a higher preoperative PSA level for the detection of incidental prostate cancer in LUTS patients with large prostates.*
Magistro G, Keller P, Westhofen T, Schott M, **Tamalunas A**, Weinhold P, Stief CG.
World J Urol. 2020 Jun 25. doi: 10.1007/s00345-020-03321-w. Online ahead of print.
7. *Inhibition of neurogenic and thromboxane A₂-induced human prostate smooth muscle contraction by the integrin $\alpha 2\beta 1$ inhibitor BTT-3033 and the integrin-linked kinase inhibitor Cpd22.*
Li B, Wang X, Wang R, Rutz B, Ciotkowska A, Gratzke C, Herlemann A, Spek A, **Tamalunas A**, Waidelich R, Stief CG, Hennenberg M.
Prostate. 2020 Aug;80(11):831-849. doi: 10.1002/pros.23998. Epub 2020 May 25.
8. *Inhibition of Female and Male Human Detrusor Smooth Muscle Contraction by the Rac Inhibitors EHT1864 and NSC23766.*
Li B, Yu Q, Wang R, Gratzke C, Wang X, Spek A, Herlemann A, **Tamalunas A**, Strittmatter F, Waidelich R, Stief CG, Hennenberg M.
Front Pharmacol. 2020 Apr 7;11:409. doi: 10.3389/fphar.2020.00409. eCollection 2020.
9. *Onvansertib, a polo-like kinase 1 inhibitor, inhibits prostate stromal cell growth and prostate smooth muscle contraction, which is additive to inhibition by α_1 -blockers.*
Wang X, Li B, Ciotkowska A, Rutz B, Erlander MG, Ridinger M, Wang R, **Tamalunas A**, Waidelich R, Stief CG, Hennenberg M.
Eur J Pharmacol. 2020 Apr 15;873:172985. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.172985. Epub 2020 Feb 1.

10. *Ghrelin Aggravates Prostate Enlargement in Rats with Testosterone-Induced Benign Prostatic Hyperplasia, Stromal Cell Proliferation, and Smooth Muscle Contraction in Human Prostate Tissues.*
Wang X, Wang Y, Gratzke C, Sterr C, Yu Q, Li B, Strittmatter F, Herlemann A, **Tamalunas A**, Rutz B, Ciotkowska A, Waidelich R, Liu C, Stief CG, Hennenberg M.
Oxid Med Cell Longev. 2019 Nov 22;2019:4748312. doi: 10.1155/2019/4748312.
eCollection 2019.
11. *The STK16 inhibitor STK16-IN-1 inhibits non-adrenergic and non-neurogenic smooth muscle contractions in the human prostate and the human male detrusor.*
Li B, Wang X, Rutz B, Wang R, **Tamalunas A**, Strittmatter F, Waidelich R, Stief CG, Hennenberg M.
Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2019 Dec 23. doi: 10.1007/s00210-019-01797-x. Epub 2019 Dec 23.
12. *A NAV2729-sensitive mechanism promotes adrenergic smooth muscle contraction and growth of stromal cells in the human prostate.*
Yu Q, Gratzke C, Wang R, Li B, Kuppermann P, Herlemann A, **Tamalunas A**, Wang Y, Rutz B, Ciotkowska A, Wang X, Strittmatter F, Waidelich R, Stief CG, Hennenberg M.
J Biol Chem. 2019 Aug 9;294(32):12231-12249. doi: 10.1074/jbc.RA119.007958. Epub 2019 Jun 26.
13. *New strategies for inhibition of non-adrenergic prostate smooth muscle contraction by pharmacologic intervention.*
Yu Q, Gratzke C, Wang Y, Wang X, Li B, Strittmatter F, Herlemann A, Wang R, **Tamalunas A**, Waidelich R, Stief CG, Hennenberg M.
Prostate. 2019 May;79(7):746-756. doi: 10.1002/pros.23780. Epub 2019 Feb 27.
14. *Inhibition of Prostate Smooth Muscle Contraction by Inhibitors of Polo-Like Kinases.*
Hennenberg M, Kuppermann P, Yu Q, Herlemann A, **Tamalunas A**, Wang Y, Rutz B, Ciotkowska A, Strittmatter F, Stief CG, Gratzke C.
Front Physiol. 2018 Jun 15;9:734. doi: 10.3389/fphys.2018.00734.
15. *Inhibition of smooth muscle contraction and ARF 6 activity by the inhibitor for cytohesin GEFs, secinH3 in the human prostate.*
Herlemann A, Keller P, Schott M, **Tamalunas A**, Ciotkowska A, Rutz B, Wang Y, Yu Q, Waidelich R, Strittmatter F, Stief CG, Gratzke C, Hennenberg M.
Am J Physiol Renal Physiol. 2018 Jan 1;314(1):F47-F57. doi: 10.1152/ajprenal.00125.2017.
16. *Inhibition of agonist-induced smooth muscle contraction by picotamide in the male human lower urinary tract outflow region.*
Hennenberg M, **Tamalunas A**, Wang Y, Keller P, Schott M, Strittmatter F, Rutz B, Ciotkowska A, Stief CG, Gratzke C.
Eur J Pharmacol. 2017 May 15;803:39-47. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.03.022.

17. *Non-adrenergic, Tamsulosin-Insensitive Smooth Muscle Contraction is Sufficient to Replace α_1 -Adrenergic Tension in the Human Prostate.*
Hennenberg M, Acevedo A, Wiemer N, Kan A, **Tamalunas A**, Wang Y, Yu Q, Rutz B, Ciotkowska A, Herlemann A, Strittmatter F, Stief CG, Gratzke C.
Prostate. 2017 May;77(7):697-707. doi: 10.1002/pros.23293.
18. *Smooth muscle contraction and growth of stromal cells in the human prostate are both inhibited by the Src family kinase inhibitors, AZM475271 and PP2.*
Wang Y, Gratzke C, **Tamalunas A**, Rutz B, Ciotkowska A, Strittmatter F, Waidelich R, Liu C, Stief CG, Hennenberg M.
Br J Pharmacol. 2016 Dec;173(23):3342-3358. doi: 10.1111/bph.13623.
19. *Inhibition of Adrenergic and Non-adrenergic Smooth Muscle Contraction in the Human Prostate by the Phosphodiesterase 10-Selective Inhibitor TC-E 5005.*
Hennenberg M, Schott M, Kan A, Keller P, **Tamalunas A**, Ciotkowska A, Rutz B, Wang Y, Strittmatter F, Herlemann A, Yu Q, Stief CG, Gratzke C.
Prostate. 2016 Nov;76(15):1364-74. doi: 10.1002/pros.23208.
20. *P21-Activated Kinase Inhibitors FRAX 486 and IPA3: Inhibition of Prostate Stromal Cell Growth and Effects on Smooth Muscle Contraction in the Human Prostate.*
Wang Y, Gratzke C, **Tamalunas A**, Ciotkowska A, Rutz B, Waidelich R, Strittmatter F, Liu C, Stief CG, Hennenberg M.
PloS One. 2016 Apr 12;11(4):e0153312.

8.4 Übersichtsartikel und Reviews

1. *The role of the microbiome in urological diseases.*
Atzler M, Westhofen T, **Tamalunas A**, Schott M, Keller P, Ebner B, Stief C, Magistro M.
Aktuelle Urol. 2021 Jun 8. doi: 10.1055/a-1478-2960. Online ahead of print.
2. *Systemic Treatment of Bladder Cancer.*
Tamalunas A, Schulz GB, Rodler S, Apfelbeck M, Stief CG, Casuscelli J.
Urologe A. 2021 Feb;60(2):247-258. doi: 10.1007/s00120-020-01420-5.
3. *Benign prostatic enlargement: symptoms, diagnostics and therapy.*
Tamalunas A, Magistro G, Grimm T, Jokisch JF, Westhofen T, Schott M, Stief CG, Weinhold P.
MMW Fortschr Med. 2019 May;161(8):50-57. doi: 10.1007/s15006-019-0017-7.

9 Danksagungen

Allen voran danke ich Herrn Prof. Dr. rer. nat. Martin Hennenberg, der mich seit meiner experimentellen Doktorarbeit bei allen Forschungsvorhaben immer tatkräftigst unterstützt. Er ist ein Mentor, wie man ihn sich nur wünschen kann.

Herrn Prof. Dr. med. Christian Stief gilt mein besonderer Dank für die stete Förderung meiner Forschungsvorhaben und die Möglichkeit und das Vertrauen eigenständig Projekte zu entwickeln. Er ist als Direktor der Urologischen Klinik ein wissenschaftliches, klinisches und vor allem menschliches Vorbild für mich und die gesamte Abteilung.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Giuseppe Magistro danke ich für die Einführung in die klinische Forschung, sein ausgezeichnetes Mentoring und bereitwillige Unterstützung meiner Projekte.

Herrn Prof. Dr. med. Christian Gratzke danke ich für den über Jahre bestehenden fachlichen, kollegialen und vor allem freundschaftlichen Austausch, der zum Gelingen dieser Arbeit enorm beigetragen hat.

Frau Dipl. Chem. Beata Rutz und Frau Dipl. Biol. Anna Ciotkowska danke ich für die über Jahre bestehende Unterstützung im Labor. Ohne ihre Mitarbeit wären viele Projekte nicht umsetzbar gewesen.

Zuletzt gilt mein besonderer Dank meinem Partner, Herrn Dr. med. Henrik Höhn, der immer an mich glaubt.