

Aus der Klinik für Urologie und Kinderurologie des Fachbereichs für
Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. R. Hofmann

Veränderungen von NGF und PGE2 bei Patienten mit überaktiver Blase nach BoNT-A Therapie – Biomarker bei OAB?

Inaugural - Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Humanmedizin (Dr. med.)



Dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Sonja Knippschild
aus Haltern/ Westfalen

Marburg, 2015

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
am: 18.09.2015

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. med. H. Schäfer
Referent: apl. Prof. Dr. med. A. Hegele
Korreferent: PD. Dr. med. M. Steinkamp

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
1.1 Überaktive Blase.....	1
1.2 Pathogenese und Pathophysiologie.....	2
1.3 Funktionen des Urothels.....	3
1.4 Innervation von Urothel und Suburothel.....	4
1.5 Kommunikation des Urothels mit dem Nervensystem.....	6
1.5.1 Rezeptoren und ihre Transmitter.....	7
1.5.1.1 <i>Transient receptor potential channels (TRP)</i>	7
1.5.1.2 <i>Adenosintri-phosphat (ATP)</i>	7
1.5.1.3 <i>Acetylcholin (ACh) und Stickoxid (NO)</i>	8
1.5.1.4 <i>Nerve Growth Factor (NGF)</i>	11
1.5.1.5 <i>Prostaglandin E2 (PGE2)</i>	12
1.5.1.6 <i>Botulinumtoxin (BoNT)</i>	15
1.6 Ziel der Untersuchung.....	16
2 Material und Methoden	17
2.1 Studiendesign.....	17
2.1.1 Patientenauswahl.....	17
2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien.....	17
2.2 Studienablauf.....	18

2.3 Präoperative Vorbereitung.....	18
2.3.1 Erster präoperativer Termin.....	19
2.3.2 Zweiter präoperativer Termin.....	19
2.4 Stationärer Aufenthalt und Operation.....	19
2.5 Ablauf der BoNT-A-Injektion.....	20
2.6 Postoperative Kontrollen.....	20
2.6.1 Erste postoperative Kontrolle.....	20
2.6.2 Weitere postoperative Kontrollen.....	21
2.7 Instrumente zur Erfassung der Lebensqualität.....	21
2.7.1 Fragebögen.....	21
a) ICIQ-SF.....	21
b) KHQ.....	22
c) Miktionsprotokoll.....	22
2.8 Urodynamische Untersuchung.....	22
2.9 Proteinbestimmung.....	24
2.9.1 Serumgewinnung für NGF und PGE2.....	24
2.9.2 Humanes β -NGF ELISA Kit	25
2.9.3 Prostaglandin E2 Assay	26
3.0 Auswertung.....	27

4 Ergebnisse	28
4.2 Patientengruppen.....	28
4.2.1 Patienten NGF.....	28
4.2.2 Patienten PGE2.....	28
4.2.3 Kontrollgruppe.....	28
4.3 Objektive Parameter sNGF.....	29
4.3.1 sNGF vor der Therapie.....	29
4.3.2 wet OAB versus dry OAB.....	30
4.3.3 sNGF und Lebensalter.....	31
4.3.4 sNGF nach BoNT-A Therapie.....	31
4.3.5 Non responder.....	32
4.3.6 Ansprechen und Lebensqualität.....	32
4.4 Objektive Parameter sPGE2	33
4.4.1 sPGE2 vor Therapie.....	33
4.4.2 wet OAB versus dry OAB.....	34
4.4.3 sPGE2 und Lebensalter.....	34
4.4.4 sPGE2 nach BoNT-A.....	35
4.4.5 Non responder.....	36
4.4.6 Ansprechen und Lebensqualität.....	37
4.4.7 BoNT-A Wirkdauer.....	37
5 Diskussion	39
5.1 Patientenkollektive.....	39
5.2 Dysport.....	40
5.3 OP-Methode.....	40
5.4 Lebensqualität.....	41

5.5 sNGF und sPGE2 > 60 Jahre.....	42
5.6 Non responder.....	42
5.7 NGF und PGE2	42
5.8 NGF und PGE2 unter Therapie.....	45
5.9 BoNT-A als Therapeutikum.....	49
6 Zusammenfassung	55
7 Summary	58
8 Literaturverzeichnis	61
9 Anhang	77
9.1 International Consultation of Incontinence – short form.....	77
9.2 King’s Health Questionnaire.....	79
10 Abkürzungsverzeichnis	82

1 Einleitung

1.1 Überaktive Blase

Das Krankheitsbild der überaktiven Blase (OAB) ist ein Symptomenkomplex bestehend aus Pollakisurie, Nykturie, imperativem Harndrang mit oder ohne Inkontinenz. Sie wird aufgrund ihrer Ätiologie in die neurogene überaktive Blase und in die idiopathische überaktive Blase eingeteilt. Im Zuge der Arbeit wird nur auf die idiopathische überaktive Blase eingegangen.

Zur Zeit sind ca. 16% der Gesamtbevölkerung betroffen mit steigender Inzidenz (Milsom et al., 2001). Von der Internationalen Kontinenz Gesellschaft (ICS) wird der Symptomenkomplex der überaktiven Blase wie folgt definiert:

„...beinhaltet die Speichersymptome Pollakisurie, imperativer Harndrang und Nykturie mit oder ohne Inkontinenz. Es darf dabei keine lokale, metabolische, neurologische oder endokrine Pathologie zugrunde liegen.“ (DGGG, 2010; Haylen et al., 2010)

Pollakisurie wird hierbei als eine Miktionsfrequenz von 8 Mal pro 24 Stunden bei einer normalen Harnmenge von 2,5 Litern pro 24 Stunden definiert. Die Patienten sind häufig von einem imperativen Harndrang geplagt. Dieser ist definiert als ein plötzlich einsetzender und nur schwer zu unterdrückender Harndrang, der nicht selten mit Harnverlust einhergehen kann (Haylen et al., 2010).

Die Diagnose wird klinisch anhand der vorhandenen Symptome gestellt. Sowohl Männer als auch Frauen können erkranken, wobei Frauen jedoch häufiger von der OAB betroffen sind (Irwin et al., 2006; Stewart et al., 2003). Allgemein wird die OAB fälschlicherweise als eine Erkrankung des hohen Lebensalters betrachtet, tatsächlich kann sie in jedem Lebensalter mit steigender Prävalenz auftreten (Bschleipfer, Wagenlehner, Ludecke, Pilatz, & Weidner, 2013). Für die betroffenen Patienten bedeutet die Erkrankung oftmals einen großen Verlust an Lebensqualität. Besteht neben dem im Alltag dominierenden häufigen Harndrang und der gesteigerten Miktionsfrequenz zusätzlich eine Inkontinenz, werden soziale Kontakte und Freizeitaktivitäten oft auf ein Minimum beschränkt (Papanicolaou, Hunskar, Lose, & Sykes, 2005)

Die idiopathische OAB wird primär konservativ mit Beckenbodentraining und Führen eines Miktionsprotokolls meist in Kombination mit einem oralen Anticholinergikum therapiert. Bei Versagen konservativer Maßnahmen kann im Sinne einer „second-line“ Therapie Botulinumtoxin-A (BoNT-A) endoskopisch transurethral in den Detrusormuskel appliziert werden.

Seit Januar 2013 ist die vormalige BoNT-A off label' Therapie nun auch für die idiopathische überaktive Blase in Deutschland zugelassen.

Die Diagnostik und Therapie der OAB gewinnt aufgrund der zunehmenden Inzidenz und der steigenden Kosten im Gesundheitssystem immens an Bedeutung.

Seit 1971 wird durch die ICS die Erforschung der Ursachen einer OAB konsensuell gefördert und publiziert. Wie oben beschrieben wurden bisher lediglich die Symptome nach Ausschluss anderer möglicher Ursachen (z.B. chronische Zystitis oder neurogene Grunderkrankungen wie die neurogene Reflexblase bei Querschnittslähmung) therapiert. Über den wirklichen Entstehungsmechanismus der OAB ist bisher sehr wenig bekannt, es werden unterschiedliche Mechanismen der Entstehung diskutiert. Als ein bekannter Pathomechanismus werden Veränderungen bestimmter Mediatoren in der Harnblase diskutiert. Im Folgenden werden der Aufbau, Innervierung und Funktionen des Urothels sowie die verschiedenen bekannten Transmittersubstanzen kurz dargestellt.

1.2 Pathogenese und Pathophysiologie

Die ableitenden Harnwege werden von mehrschichtigem Epithel ausgekleidet. Diese hochspezialisierte Zellschicht wird als Urothel bezeichnet und besteht aus einer

- Basalzellschicht, die der Basalmembran aufliegt,
- einer Intermediärschicht und einer
- Deckzellschicht.

Die Zellerneuerung erfolgt aus der Basallamina, die Zellen erneuern sich ca. alle 200 Tage. Hierbei wandern die Zellen von basal nach luminal. Die luminal gelegene Deckzellschicht besteht aus großflächigen, hexagonalen Epithelzellen, die mit

Uroplakinen ausgestattet und durch „tight junctions“ untereinander verbunden sind (Apodaca, 2004; Sun, 2006; Wu, Kong, Pellicer, Kreibich, & Sun, 2009). Eine Schicht aus Glucosaminoglykanen (GAG-Schicht) schließt das Urothel zum Harnblasenlumen ab (Abb. 1).

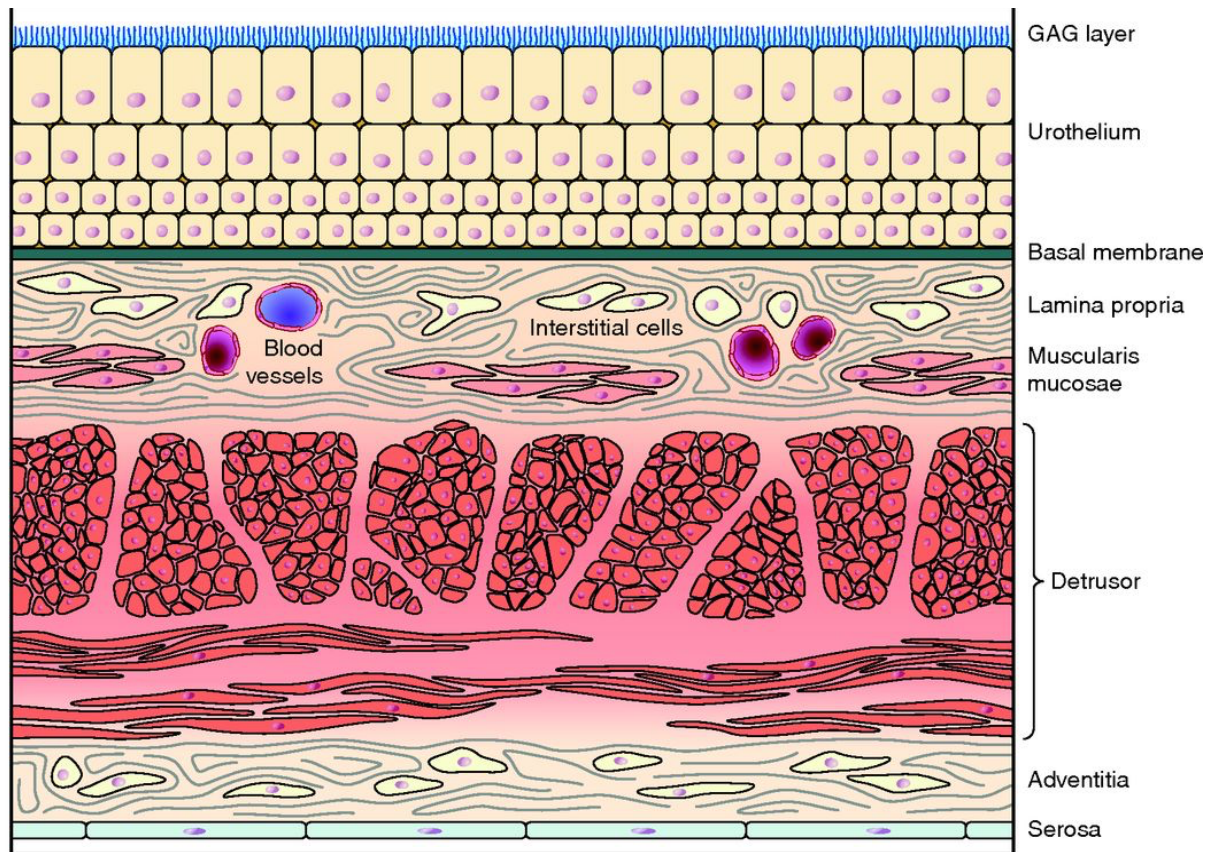


Abbildung 1:

humanes, mehrschichtiges Urothel aus: *Urothelial signaling* (Birder & Andersson, 2013)

1.3 Funktionen des Urothels

Die Blase dient als Speicherort für den ausscheidungspflichtigen Urin. Sie ist ein stark dehnbares Organ. Nach Erreichen einer bestimmten Füllmenge wird durch Kontraktion des M. detrusor der gespeicherte Inhalt entleert. Das Urothel im Blasenlumen spielt hier eine entscheidende Rolle. Bei zunehmender Blasenfüllung ist es in der Lage, sich extrem zu dehnen. Die verschiedenen Schichten des Urothels werden hierbei auseinandergezogen. Dies wird durch apikal eingebaute Vesikel

erklärt, die bei zunehmender Blasenfüllung die extreme Dehnung des Urothels ermöglichen (Balestreire & Apodaca, 2007).

Bis vor wenigen Jahren ordnete man dem Urothel lediglich eine Barrierefunktion zu. Durch die luminale GAG-Schicht, Uroplakine und „tight junctions“ zwischen den Zellen wird ein Osmoseschutz gebildet (Hu et al., 2002; Parsons, Boychuk, Jones, Hurst, & Callahan, 1990), der so die Rückresorption ausscheidungspflichtiger Substanzen oder das Eindringen von Bakterien verhindert. Die Diffusion kleiner Moleküle und Ionen (Lewis, 2000) wird ebenfalls durch das Urothel reguliert.

Neueste Ergebnisse bestätigen mittlerweile eine weit wichtigere Rolle des Urothels. Gegenstand der Forschung ist das Suburothel, das Gewebe zwischen dem eigentlichen Urothel und der glatten Muskulatur. Zahlreiche Nervenfasern, Fibroblasten und ein ausgeprägtes Gefäßnetz, in Kollagen eingebettet, bilden diese Schicht (Drake, Fry, & Eyden, 2006; Wiseman et al., 2002). Suburothel und Urothel bilden eine funktionelle Einheit, die nach neuesten Erkenntnissen in der Lage ist, die Blasenfunktionen durch Freisetzung verschiedener Transmittersubstanzen durch Kommunikation untereinander zu regulieren. Auf diese Vorgänge wird im nachfolgenden Abschnitt näher eingegangen.

1.4 Innervation von Urothel und Suburothel

Die Harnblase muss 2 Funktionen erfüllen:

- Speicherorgan
- Entleerungsorgan.

Der gespeicherte Urin wird über den Blasenauslass entleert.

Dieser besteht aus:

- Blasenhalss,
- Urethra und
- externem Sphinkter.

Zur Erfüllung dieser Funktionen wird die Blase von 3 Typen peripher Nerven innerviert:

1. die sakralen parasympathischen Nerven, die den Beckenplexus bilden,
2. Nervenfasern aus dem thorakolumbalen Übergang (N. hypogastricus, sympathischer Grenzstrang).
3. das somatische Nervensystem aus dem N. pudendus.

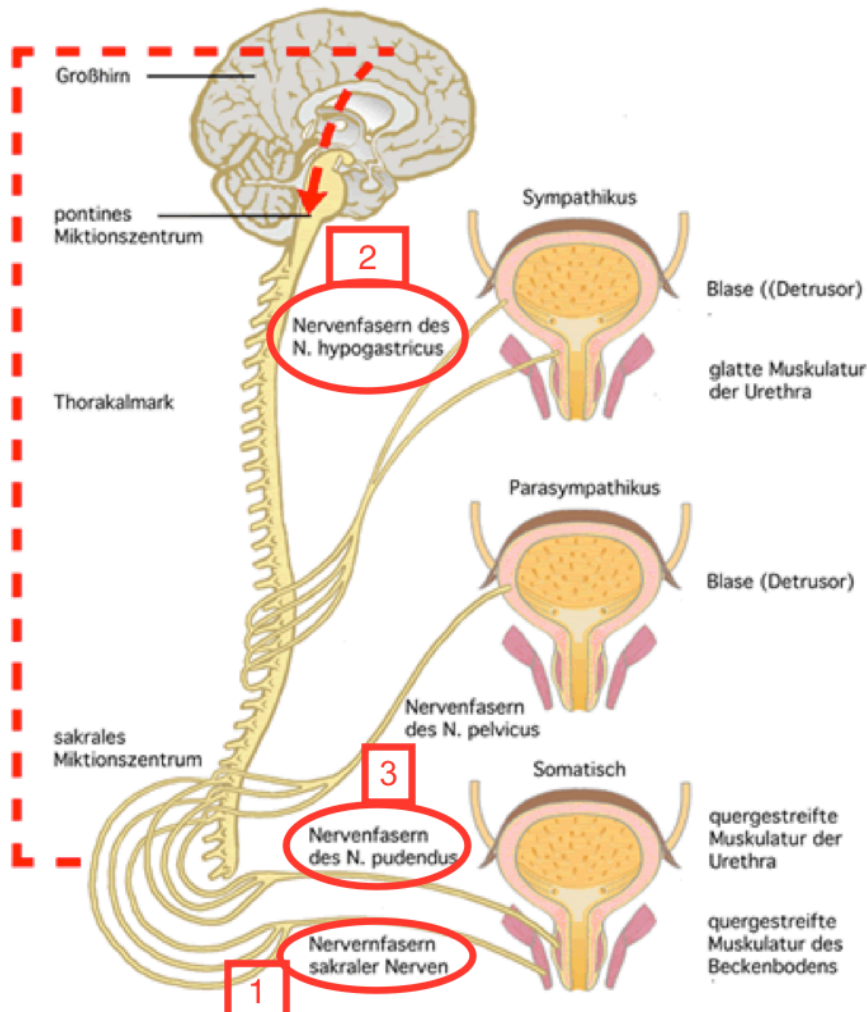


Abbildung 2

Modifizierte schematische Darstellung der Blaseninnervation aus:
Neurologie des Beckenbodens (Jost, 1997)

Efferente und afferente Fasern ziehen von thorakolumbal und sakral zur Blase. Die efferenten parasympathischen Nerven lösen Blasenkontraktionen aus und relaxieren die Urethra. Efferente sympathische Nerven relaxieren die Blase und

kontrahieren die Urethra, während somatische Nervenfasern den Sphinkter externus kontrahieren.

In den Vordergrund der Forschung sind mittlerweile die afferenten Fasern zur Innervation des Suburothels und Urothels gerückt. Speziell über myelinisierte A δ und nicht myelinisierte, nozizeptive C-Fasern aus den Spinalganglien in Höhe S2 - 4 und Th11 – L2 erfolgt die Innervation über ein dichtes Nervenfasernetz, vor allem im Trigonum und dem Blasenhals. Diese Nerven reagieren weniger auf Spannung als auf chemische Reize und gelten eher als Rezeptoren für pathologische Vorgänge. Man geht davon aus, dass die Blase in ihrer Funktion über diesen Weg moduliert wird (Birder & Andersson, 2013).

1.5 Kommunikation des Urothels mit dem Nervensystem

Zum Verständnis der bisher bekannten Funktionen des Urothels und Suburothels und deren Rolle beim Krankheitsbild der überaktiven Blase ist es notwendig, die verschiedenen Signaltransduktionswege kurz darzustellen.

Neben der Barrierefunktion setzt das Urothel auf physikalische (z.B. Harnblasendehnung) oder chemische (z.B. Infektion) Reize Transmittersubstanzen frei, die eine afferente Nervenstimulation und somit eine Stimulation von unter dem Urothel liegenden Geweben (z.B. M. detrusor) auslösen können. Das Urothel und die im Suburothel liegenden afferenten Nervenendigungen sind maßgeblich an der sensorischen Funktion der Blase beteiligt (Andersson, 2002; Yoshimura et al., 2008). Zahlreiche urotheliale Ionenkanäle wie epitheliale Na⁺-Kanäle und Transient Receptor Potential-Kanäle (TRP) sowie Rezeptoren für Bradykinin, Neutrophin-Rezeptoren (p75^{NTR}), Tropomyosin-verwandte Tyrosinkinaserzeptoren (TrKA-A), Noradrenalin und Acetylcholin, Purine und Protease-Rezeptoren sind nachgewiesenermaßen an der Blasenfunktion beteiligt. Die vom Urothel sezernierten Neurotransmitter Stickoxid (NO), Prostaglandine (PG), Adenosintriphosphat (ATP), NGF und Acetylcholin (ACh) haben exzitatorische oder inhibitorische Effekte auf afferente Nerven im oder in der Nähe vom Urothel und lösen eine direkte Reaktion am Detrusor oder den afferenten Nerven aus (Birder et al., 2012). Die

Stimulationsstärke und das Ausmaß der sezernierten Substanzen bestimmen die verschiedenen physiologischen oder pathologischen Zustände der Blase.

Dem Urothel kommt somit eine sekretive und modulierende Funktion zu. Die genauen physiologischen und pathophysiologischen Vorgänge sind noch weitestgehend unbekannt.

1.5.1 Rezeptoren und ihre Transmitter

1.5.1.1 Transient receptor potential channels (TRP)

Eine wichtige Rolle für die normale Blasenfunktion scheinen Vanilloidrezeptoren zu spielen. Es sind 22 verschiedene, für das Urothel spezifische TRP-Kanäle bekannt. Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV₁), ein nicht spezifischer Kationenkanal (Caterina et al., 1997), ist in seiner Funktion am besten beschrieben (Birder et al., 2002; Birder, Kanai, Cruz, Moore, & Fry, 2010). Er wird im Urothel, Suburothel, auf afferenten Nerven und der glatten Muskulatur der Blase exprimiert (Birder et al., 2012; Ost, Roskams, Van Der Aa, & De Ridder, 2002) und durch moderate Wärme, Protonen, Capsaicin und dessen Analoga und Anandamide aktiviert (Zygmunt et al., 1999).

In TRPV1-negativen knockout Mäusen konnten verminderte Detrusorkontraktionen sowie eine reduzierte ATP-Ausschüttung bei Blasendehnung gesehen werden (Birder, Nealen et al., 2002). TRPV1 ist bei funktionsgestörten Blasen vermehrt auf dem Urothel und afferenten Nerven exprimiert (Charrua, Cruz, Cruz, & Avelino, 2007).

1.5.1.2 Adenosintri-phosphat (ATP)

ATP ist ein ubiquitäres Nukleotid und der Energielieferant in der Zelle. Lange war nur die intrazelluläre Funktion als Cosubstrat verschiedener Kinasen zur Induktion von Endo- und Exozytose bekannt. Mittlerweile konnten Studien belegen, dass ATP urothelial von den Deck- und Basalzellen bei Dehnung des Urothels freigesetzt wird (Ferguson, Kennedy, & Burton, 1997; Knight, Bodin, De Groat, & Burnstock, 2002) und extrazellulär als Agonist purinergere Rezeptoren auf afferenten Nervenendigungen und Zellen im Suburothel, z.B. Myofibroblasten, wirkt (Wang et

al., 2005). Extrazellulär ist es hauptsächlich für die sensorische Erfassung der Blasenfüllung zuständig (Cockayne et al., 2000). Im Suburothel werden zwei purinerge Rezeptortypen exprimiert, an die ATP bindet: P1 und P2. P2-Rezeptoren teilen sich weiter auf in die Untergruppen P2X und P2Y, sie binden spezifisch ATP und seine Vorstufe ADP (Wang et al., 2005). Über P2X3-Rezeptoren an afferenten Nervenendigungen und Myofibroblasten wird eine Steuerung der Blasenfunktion durch ATP vermutet (Apostolidis et al., 2005).

Bei Mäusen mit fehlender P2X3- Expression konnte weiterhin eine urotheliale ATP-Ausschüttung nachgewiesen werden, eine Stimulation afferenter suburothelialer Nerven durch ATP fehlte jedoch. Die Mäuse zeigten eine erhöhte Miktionsfrequenz und gesteigerte Blasenkapazität (Cockayne et al., 2000). Zusätzlich zu den o.g. Ergebnissen lässt sich eine Signalweiterleitung nach ATP-Freisetzung über das Synzytium im Suburothel über weite Teile der Blasenwand vermuten (Birder et al., 2012).

1.5.1.3 Acetylcholin (ACh) und Stickoxid (NO)

Das Urothel kann stress- (=Dehnung) oder chemoinduziert neuronal und nicht-neuronal Acetylcholin (ACh) und Stickoxid (NO) freisetzen. ACh ist ein im parasympathischen und sympathischen Nervensystem wirkender Transmitter, der seine Wirkung über nikotinerge und muskarinerge Rezeptoren entfaltet. Nikotinerg wirkt es in einem first messenger System über Ionenkanäle exzitatorisch. Über die Rezeptoren M1 - M5 wird muskarinerg G-Protein gekoppelt die Kaliumleitfähigkeit verändert (über M2 und M4), was in der Zelle eine Hyperpolarisation bewirkt. Die Rezeptoren M1, M3 und M5 vermitteln einen erhöhten Ca^{++} - Einstrom in die Zelle, der weitere Signalkaskaden in Gang setzt. Muskarinerge ACh-Rezeptoren (M1 - M5) konnten in allen Schichten der Harnblase nachgewiesen werden (Bschleipfer et al., 2007).

Rezeptor	Vorkommen	Vermittelter Effekt
M1	Basalzellen	ATP-Ausschüttung, Ca ⁺⁺ ↑
M2	Deckzellen	inhibitorisch, K ⁺ - Leitfähigkeit der Zelle erhöht
M3	homogene Verteilung im Urothel	ATP-Ausschüttung, Ca ⁺⁺ ↑
M4	homogene Verteilung im Urothel	inhibitorisch, K ⁺ - Leitfähigkeit der Zelle erhöht
M5	von luminal nach basal abnehmend	whs. Indirekte Effektvermittlung auf afferenten Nerven

Tabelle 1

Muskarinerge Rezeptoren und ihre Wirkung im Urothel

Je nach Stimulationsintensität und Konzentration muskarinerner Rezeptoren werden entsprechend die Effekte an den Zielorganen verstärkt oder gemindert. Weiterhin wird eine indirekte Wirkung von Ach am afferenten Nerven durch eine komplexe Interaktion verschiedener Transmitter (NO, PG, ATP) vermutet, die zu einer Zunahme von Detrusorkontraktionen führen kann (Birder & Andersson, 2013; Nile & Gillespie, 2012).

Eine ähnliche Funktion wird NO in der Blase zugeschrieben. NO ist gasförmig, wird intrazellulär aus L-Arginin abgespalten und hat eine sehr kurze Lebensdauer. In der Blase wird es aus allen Zellschichten sowie im Suburothel auf verschiedene Reize sezerniert. In Studien konnte z.B. eine Freisetzung von NO durch Aktivierung von Vanilloidrezeptoren Ca^{++} -abhängig gesehen werden. So wird offenbar die Detrusorkontraktilität (Birder et al., 2001). Ebenfalls erfolgt eine NO-Sekretion nach Stimulation muskarinerner M5-Rezeptoren (Andersson, Tobin, & Giglio, 2008) oder nach Noradrenalinausschüttung (Birder, Apodaca, De Groat, & Kanai, 1998). Hierbei werden dem NO allerdings eher inhibitorische Eigenschaften zugeschrieben. Nach Entfernung des Urothels bei Ratten (Munoz, Gangitano, Smith, Boone, & Somogyi, 2010) beobachtete man eine hauptsächlich spontane Freisetzung von NO aus dem Suburothel. Nile vermutet eine komplexe Regulation der PGE2-Produktion im Urothel (Nile, de Vente, & Gillespie, 2010) über M2-Rezeptoren, getriggert durch NO und ATP in Kombination. Die genauen Mechanismen sind jedoch auch hier weiterhin unbekannt.

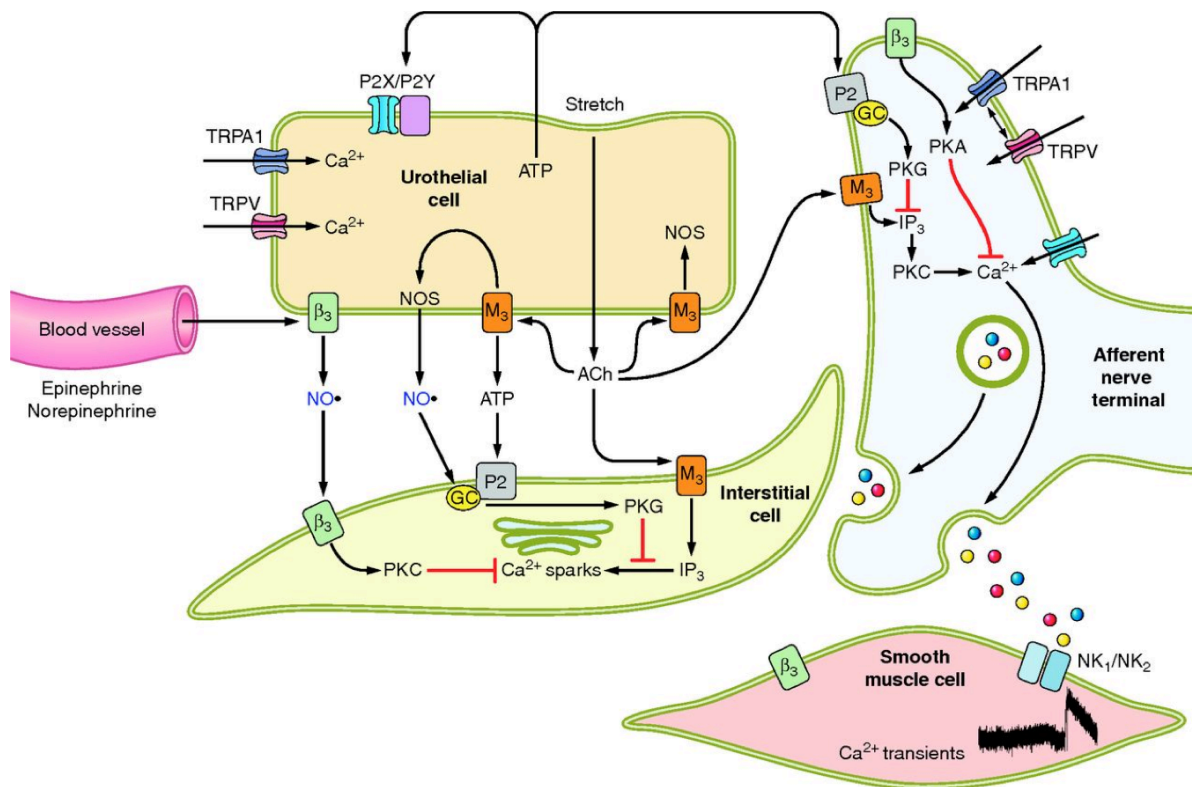


Abbildung 3

Schematische Darstellung der möglichen verschiedenen Transmitter/Signaltransduktionswege in Nerven und Muskeln der Harnblase, Urothel und Suburothel.

Aus: *Urothelial signaling* (Birder & Andersson, 2013)

1.5.1.4 Nerve Growth Factor (NGF)

1986 gewannen Stanley Cohen und Rita Levi-Montalcini den Nobelpreis für die Entdeckung von NGF, welches zur Gruppe der Neurotrophine (NT) gehört.

Die Familie der NT umfasst weiterhin den Brain derived neurotrophic factor (BDNF) und die NT 3 und 4. Im Folgenden wird nur auf den für diese Arbeit wichtigen NGF eingegangen.

NGF wird als ca. 27 kDa großes Vorläuferprotein synthetisiert und über intrazelluläre enzymatische Spaltung in pro-NGF umgewandelt. Weitere Prozessierung führt zur Ausbildung des ca. 12 kDa schweren reifen NGF. Seine Effekte vermittelt NGF über die Bindung an zwei unterschiedliche Rezeptorsysteme. Es bindet spezifisch an den Tropomyosin-verwandten Tyrosinkinase-rezeptor (Trk) der Gruppe A (Skaper, 2012).

Weniger spezifisch bindet NGF an p75^{NTR} ein Rezeptor aus der Superfamilie der Tumor-Nekrose-Faktoren, der alle Neutrophine binden kann (Chao, 2003; Skaper, 2008). Nach der Proteinbindung induziert der TrkA-Rezeptor die Zellaktivierung, Differenzierung und Zellüberleben, während die Aktivierung von p75^{NTR} die Apoptose und damit den Zelltod vermitteln kann (Skaper, 2012). p75^{NTR} und TrkA werden in der gesamten Blase im Urothel, Suburothel, auf afferenten Nerven des Detrusors und benachbarten Nerven im suburothelialen vaskulären Gewebe exprimiert (Klinger & Vizzard, 2008).

Durch den wachstumsstimulierenden NGF werden in der embryonalen Phase das Nervenwachstum sowie die Enddifferenzierung einzelner Nerven bestimmt. Beim erwachsenen Menschen dient NGF dem Funktionserhalt nicht myelinisierter afferenter Neurone (C-Fasern), die Schmerzreize übermitteln. Weiterhin spielt NGF eine zentrale Rolle bei somatischen und viszeralen Entzündungen (Chuang et al., 2001; Huang & Reichardt, 2001).

In der Blase wird NGF sowohl vom Urothel, glatter Muskulatur als auch von afferenten Neuronen sezerniert (Steers & Tuttle, 2006 February). Eine Überexpression führt zu Hyperreflexie oder Detrusorüberaktivität (Yokoyama, Kumon, & Nagai, 2008). In Mäusen mit NGF-Überexpression des Urothels konnten eine Hyperplasie der Nervenfasern im submukösen Blasengewebe, ein dichteres Nervenfasernetz, eine fokale Mastzellinfiltration (Levi-Montalcini, Skaper, Dal Toso, Petrelli, & Leon, 1996), eine Hyperreflexie der Blase sowie eine gesteigerte somatische Hypersensitivität (Schnegelsberg et al., 2010) nachgewiesen werden.

1.5.1.5 Prostaglandin E2 (PGE2)

PG sind Gewebshormone, die im Körper von Säugetieren und Menschen hauptsächlich aus der Arachidonsäure mit Hilfe der Cyclooxygenasen 1 und 2 (COX) gebildet werden. In den 1930er Jahren wurden sie von Von Euler (Von Euler, 1939) und Goldblatt (Goldblatt, 1935) erstmals als in der Samenflüssigkeit vorkommende Substanz beschrieben. Sie benannten sie nach ihrem Entdeckungsort (Samenblase) ‚Prostaglandin‘. 1962 isolierten S. Bergström und B. Samuelsson (Bergstrom & Samuelsson, 1962) kristalline Derivate, die sie nach ihrer jeweiligen Löslichkeit mit

PG-E und PG-F bezeichneten. 1982 wurde ihnen zusammen mit J.R. Vane der Nobelpreis für Medizin und Physiologie verliehen.

Prostaglandine sind Carbonsäuren, die aus 20 C-Atomen bestehen und über Cyclooxygenasen gebildet werden. Je nach Modifikation des Carbonsäurerings entstehen verschiedene Typen der Prostaglandine (A-I) sowie Thromboxan A₂.

Es werden verschiedene Serien von Prostaglandinen unterschieden: Serie 1 wird aus der Dihomogammalinolensäure synthetisiert, Serie 2 aus der Arachidonsäure und Serie 3 aus Eicosapentaensäure. Die 3 Serien lösen jeweils unterschiedliche Reaktionen im Körper aus. Für diese Arbeit wird im Folgenden lediglich auf die Serie 2, im speziellen auf Prostaglandin E₂ eingegangen.

Die Prostaglandinsynthese ist ein wesentlicher Bestandteil des Fettstoffwechsels. Auf verschiedene physikalische und pathologische Reize wird das Enzym Phospholipase A₂ freigesetzt, es katalysiert die Freisetzung von Fettsäuren aus Membranphospholipiden. Für die Synthese der Prostaglandine der Serie 2 wird aus Arachidonsäure über Cyclooxygenasen zunächst Prostaglandin H₂ synthetisiert. Über die PGE-Synthase entsteht schließlich PGE₂. Das gebildete Prostaglandin wird auf Reize unmittelbar ausgeschüttet und hat lediglich eine kurze Halbwertszeit. Es wird rasch metabolisiert, so dass der Schluss zugelassen werden kann, dass die Wirkung der Prostaglandine auf ihren Syntheseort begrenzt ist (Narumiya, Sugimoto, & Ushikubi, 1999).

Coleman konnte 1994 eine Reihe von G-Protein gekoppelten Membranrezeptoren identifizieren, die nach ihrer Präferenz für die Prostaglandine mit den entsprechenden Buchstaben bezeichnet werden (D, E, F, I oder T) (Coleman, Smith, & Narumiya, 1994). Speziell für Prostaglandin E₂ wurden 4 Subtypen ermittelt: die Rezeptoren EP-1 bis EP-4 vermitteln spezifisch die Wirkungen von PGE₂ (McCafferty, Misajet, Laping, Edwards, & Thorneloe, 2008a).

Im gesamten menschlichen Körper modulieren Prostaglandine second messenger Systeme. Ihre Wirkweise ist vielfältig. Typische Prostaglandin-induzierte Effekte sind beispielsweise die Relaxation und Kontraktion glatter Muskulatur sowie die Neuromodulation (Inhibition oder Stimulation der Neurotransmitterfreisetzung, Sensibilisierung sensorischer Fasern, Fieberinduktion oder Schlafinduktion). Im

Gastrointestinaltrakt steuern sie Sekretion und Motilität, renal werden Ionen- und Wassertransport reguliert. Weiterhin sind sie bei der Zelloptose und -differenzierung sowie der Onkogenese beteiligt. Eine weitere wichtige Funktion bildet die Homöostase und Hämostase sowie die Blutplättchenaktivität (Narumiya et al., 1999).

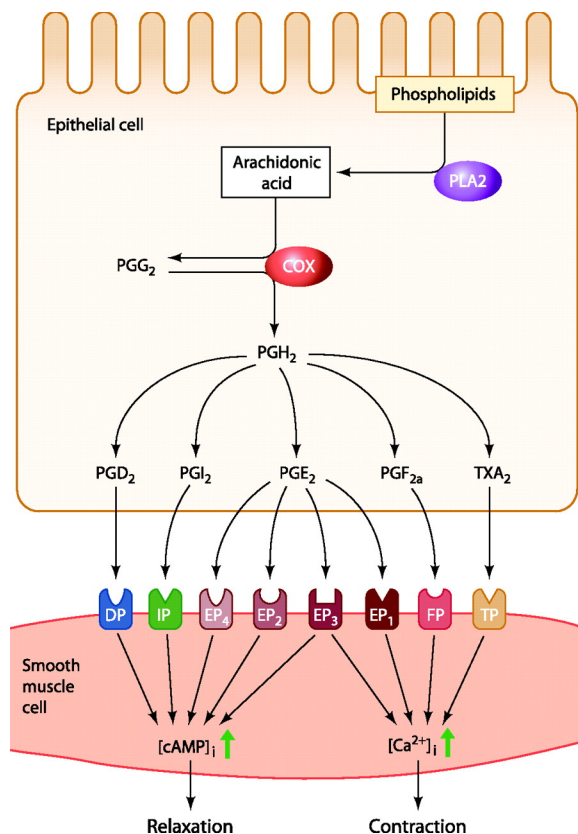


Abbildung 4

Prostaglandinsynthese in der Zelle und Darstellung der rezeptor-vermittelten Effekte an der Muskelzelle.

Aus: *Regulation of smooth muscle contraction by the epithelium: role of prostaglandins* (Ruan, Zhou, & Chan, 2011)

Für die Blasenfunktion in Säugetieren spielt PGE₂ eine entscheidende Rolle. Es ist in der Blase von allen Prostaglandinen am meisten vorhanden. In vielen Studien ist eine Synthese sowohl im Urothel als auch von der glatten Muskulatur belegt (Gee, Lee, Grossman, & Sabichi, 2008; Klausner et al., 2011; Kobayter, Young, & Brain, 2012). Vor allem bei physikalischen Reizen wie Blasendehnung oder elektrischer Stimulation wird es synthetisiert (Masunaga et al., 2006; Pinna, Zanardo, & Puglisi, 2000) und kann so zu Detrusorkontraktionen (Schroder, Newgreen, & Andersson, 2004a) und reduzierter Blasenkapazität (Rahnama'i, Biallostowski, de Wachter, Van Kerrebroeck, & van Koevinge, 2012; Schussler, 1990) führen.

1.5.1.6 Botulinumtoxin (BoNT)

BoNT wird von dem Bakterium *Clostridium botulinum* produziert und besitzt 7 Serotypen: A-G (Foran et al., 2003). In der Humanmedizin ist lediglich das langwirksame BoNT Typ A (BoNT-A) therapeutisch relevant, toxisch sind für Menschen jedoch die Serotypen A, B und E. Die toxische Wirkung beruht auf einer präsynaptischen Blockade der ACh-Ausschüttung an der motorischen Endplatte.

BoNT ist ein hochmolekulares, homologes Protein, welches aus zwei Teilen besteht: einem leichtkettigen Anteil und einer schweren Kette, die über eine Disulfidbrücke verbunden sind. Hochspezifisch bindet BoNT-A an cholinerge Nervenendigungen, präsynaptische sympathische und parasymphatische Ganglien sowie postsynaptische parasymphatische Ganglien. Die höchste Bindungssensitivität besteht für die motorische Endplatte. Mit dem schweren Kettenanteil, dem sogenannten Hüllprotein, bindet es an die Zelle. Der eigentlich paralyzierende Proteinanteil, die zinkbindende leichte Kette, bildet eine Endoprotease. Diese wird via Endozytose in das Zytosol transloziert und spaltet dort SNARE-Proteine (soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment receptor). Die proteolytische Aktivität und Spezifität variiert zwischen den einzelnen Serotypen: die Serotypen A,C und E spalten SNAP-25 (Synaptosomal - associated protein 25). Serotyp B, D, E und F spalten VAMP (vesicle associated membrane protein) (Kanai et al., 2012a). Die Acetylcholinfreisetzung wird hierdurch gehemmt und es kommt zu einer schlaffen Muskellähmung.

Die Aufnahme von BoNT-A in die jeweilige Zelle ist abhängig von deren Nervenaktivität und der Expression sogenannter synaptischer Vesikel. Insbesondere die Typgruppe 2 (Dong et al., 2006; Mahrhold, Rummel, Bigalke, Davletov, & Binz, 2006) der terminalen Nervenenden (Kanai et al., 2012b) ist für die Aufnahme von BoNT-A ins Zytosol wichtig. In der Blase sind während der Miktion parasymphatische Fasern aktiv, die eine hohe Expression von SV-2 besitzen. Hierdurch kann das gute Ansprechen auf BoNT-A bei Blasenentleerungsstörungen erklärt werden.

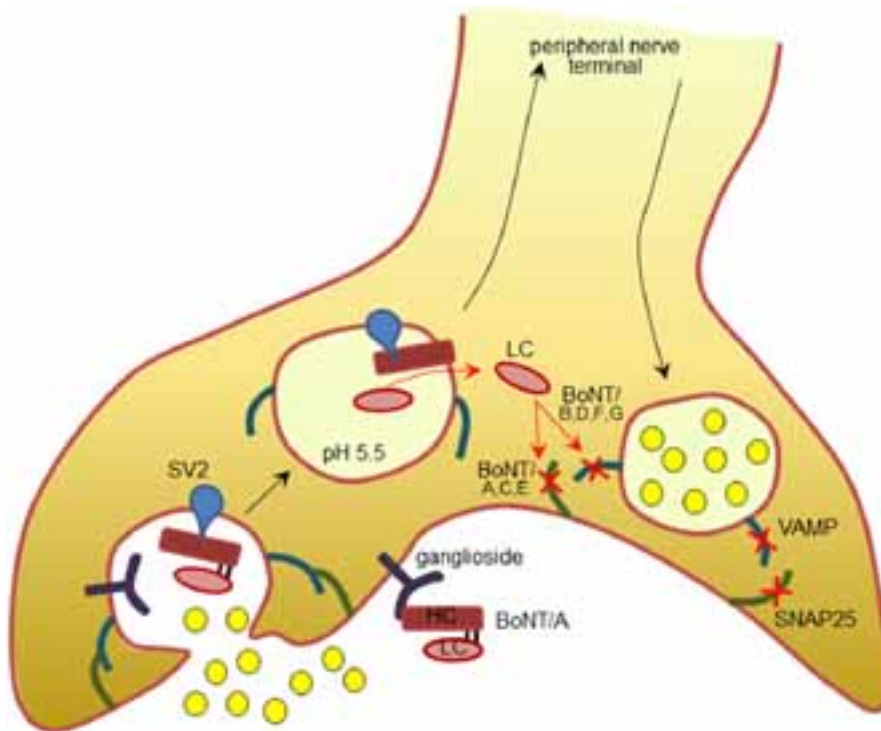


Abbildung 5

BoNT-Aufnahme und Wirkung im terminalen Nerven, aus:
Mechanisms of action of botulinum neurotoxins, beta3-adrenergic receptor agonists, and PDE5 inhibitors in modulating detrusor function in overactive bladders (Kanai et al., 2012a)

1.6 Ziel der Untersuchung

Mit dieser Studie sollte erstmals die Proteinkonzentrationen von NGF und PGE2 im Serum bei Patienten mit überaktiver Blase vor und nach BoNT-A Injektion untersucht und mit dem klinischen Verlauf wie z.B. Ansprechen auf die Therapie korreliert werden. Unsere Studie soll zur Differenzierung der vielen verschiedenen Ursachen der Blasenentleerungsstörung beitragen und die Möglichkeit einer leichteren Diagnosestellung und Therapieüberwachung im klinischen Alltag untersuchen.

2 Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Es handelt sich um eine prospektive, nicht randomisierte Studie, die objektiv und subjektiv erhobene Parameter vergleicht.

2.1.1 Patientenauswahl

Die Studie wurde von der zuständigen Ethikkommission der Philipps-Universität Marburg positiv bewertet (AZ 12/11).

Für die Untersuchung wurden Patientinnen und Patienten mit einer diagnostizierten überaktiven Blase aus der Kontinenzsprechstunde der urologischen Hochschulambulanz Marburg ausgewählt.

Voraussetzung für die Teilnahme an der Untersuchung war das Versagen konservativer Therapiemaßnahmen. Gemäß den Leitlinien der Deutschen Kontinenz Gesellschaft e. V. wurde die Indikation zur BoNT-A Applikation in die Blase gestellt. Lagen von medizinischer Seite keine Kontraindikationen für den operativen Eingriff vor und waren die Ein- und Ausschlusskriterien erfüllt, konnten die Patienten in die Studie eingeschlossen werden. Die Studienteilnahme konnte von den Patienten jederzeit widerrufen werden. Erfasst wurden Patientenalter und –geschlecht, Vorlagenverbrauch und Miktionsfrequenz, Inkontinenzepisoden und die individuelle Lebensqualität. Gaben die Patienten Harndrang mit Inkontinenzereignissen an, wurde dies als OAB/wet, andernfalls als OAB/dry nach den Kriterien der ICS klassifiziert (Milsom et al., 2001; Stewart et al., 2003). Im PGE2–Studienteil konnte ebenfalls die Wirkdauer von BoNT-A ermittelt werden.

2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien

In die Studie eingeschlossen wurden informierte und einverständene weibliche und männliche Patienten im Alter von mindestens 18 Jahren mit symptomatischer, überaktiver Blase.

Einschlusskriterien waren die urodynamisch nachweisbare, nicht-neurogene überaktive Blase mit Detrusorüberaktivität oder die hypersensitive, kleinkapazitäre

Blase ohne Detrusorüberaktivität. Die vorangegangene, erfolglose konservative Therapie war Voraussetzung für die Studienteilnahme.

Patienten mit mangelnden Deutschkenntnissen, nicht gegebener Aufklärungs- oder Einwilligungsfähigkeit oder Kontraindikationen für die BoNT-A Therapie bzw. bereits erfolgter BoNT-A Injektion wurden ausgeschlossen. Ebenso wurden Patienten mit nachgewiesener neurogener Blasenentleerungsstörung, chronischer interstitieller Zystitis oder Prostatahyperplasie nicht in die Studie aufgenommen.

2.2 Studienablauf

Die Untersuchungen erfolgten ca. eine Woche prä- und vier Wochen postoperativ analog zu den sonst üblichen vorbereitenden Operationsvorbereitungen bzw. im Rahmen der Kontinenzsprechstunde.

2.3 Präoperative Vorbereitung

2.3.1 Erste präoperative Untersuchung

Die für die Studie geeigneten Patienten wurden in der urodynamischen Sprechstunde zunächst einer erneuten ausführlichen allgemeinen und urologischen, bei den weiblichen Teilnehmern auch gynäkologischen Anamnese, unterzogen.

Validierte Fragebögen zu Kontinenzsituation und Lebensqualität (King's Health Questionnaire (KHQ) und ICI Questionnaire Short Form (ICIQ-SF), siehe Anhang 9) wurden den Patienten ausgehändigt. Voraussetzung für die Studienteilnahme war ein für mindestens 3 Tage geführtes Miktionsprotokoll mit Dokumentation der Trinkmenge, Harnmenge und Miktionsfrequenz. Akute Erkrankungen wie z.B. eine Harnwegsinfektion wurden zunächst durch eine körperliche Untersuchung, Urinanalyse (Urinstix und eventuell Urinkultur) sowie einer Blutabnahme mit Bestimmung von Blutbild, Elektrolyten, Nierenfunktionsparametern und Entzündungswerten ausgeschlossen. Ebenfalls zum Ausschluss organischer Ursachen oder Fehlbildungen erfolgte die sonographische Darstellung beider Nieren und der gefüllten Blase. Alle Patienten wurden urodynamisch evaluiert. Vor der urodynamischen Messung wurden alle Patientinnen vaginal mittels geteilter Spekula eingestellt und die Harnröhre mit Bougies-à-boules kalibriert. Eine Meatusenge wurde bei männlichen Patienten inspektorisch ausgeschlossen.

Im Rahmen der ersten Aufklärung erhielten die Patienten Informationsmaterial zur Studie und der BoNT-A Behandlung, ein weiterer Termin zur OP-Planung wurde terminiert. So bestand ausreichend Bedenkzeit für die Entscheidung zur Studienteilnahme.

2.3.2 Zweiter präoperativer Termin

Circa eine Woche vor dem vereinbarten Operationstermin erfolgte eine detaillierte schriftliche Aufklärung über den Eingriff mit den möglichen Risiken und Komplikationen. Die Einverständniserklärungen zur Operation und Studienteilnahme wurden an diesem Tag eingeholt und archiviert.

Die Behandlung der überaktiven Blase mit BoNT-A war zum Zeitpunkt der Studie noch nicht zugelassen, die Therapie erfolgte ‚off label‘. Alle Patienten wurden gesondert hierüber aufgeklärt. Die weitere Operationsvorbereitung beinhaltete außerdem die Aufklärung durch die Anästhesie, falls der Eingriff in Narkose gewünscht wurde.

2.4 Stationärer Aufenthalt und Operation

Die stationäre Aufnahme erfolgte am Morgen des Operationstages nüchtern. In einer kurzen Visite wurden die Patienten erneut über Ihre Einwilligung zur Studienteilnahme befragt. Alle Patienten erhielten präoperativ eine einmalige antibiotische Prophylaxe. Die Eingriffe wurden – je nach Patientenwunsch – in lokaler Anästhesie oder Vollnarkose durchgeführt.

Postoperativ blieben die Patienten für 48 Stunden stationär. Am 1. postoperativen Tag erfolgte eine sonographische Restharnkontrolle. Bei hohen Restharmengen erfolgte nach weiteren 24 Stunden eine Re-Evaluation. Bestand weiterhin hoher Restharn war eine Kathetereinlage für zunächst 14 Tage notwendig. Ein Kontrolltermin 4 Wochen postoperativ wurde vereinbart, zu dem ein Miktionsprotokoll mindestens über 3 Tage mitgebracht werden sollte.

2.5 Ablauf der BoNT-A Injektion

Wir führten den Eingriff, je nach Patientenwunsch, in lokaler Betäubung (intravesikaler Injektion von Scandicain 1%, 40 ml mit 20-minütiger Einwirkzeit) oder Vollnarkose durch.

Die Lagerung erfolgte in Steinschnittposition. Initial erfolgte eine diagnostische Urethrozystoskopie, um urotheliale Pathologien wie z.B. einen Blasentumor auszuschließen und das Blasenvolumen, falls dies nicht im Rahmen der urodynamischen Untersuchung eruiert wurde, zu bestimmen. War der Befund unauffällig, erfolgte bei gefüllter Blase die Injektion von BoNT-A über eine flexible, über das Zystoskop geführte Hohladel an 20 verschiedenen Stellen des M. detrusor vesicae. Gemäß den aktuellsten Publikationen (Frohme et al., 2010) wurde der trigonale Bereich ebenfalls mit einbezogen. Es wurden insgesamt 500 Mouse Units (MU) der BoNT-A Formulierung Dysport® (Ipsen Pharma, Ettlingen, Deutschland) injiziert. Abschließend erfolgte eine erneute Zystoskopie, um Blutungen auszuschließen.

2.6 Postoperative Kontrollen

2.6.1 Erste postoperative Kontrolle

Eine erste postoperative Kontrolle zur Evaluierung der BoNT-A Wirkung erfolgte 4 Wochen nach dem Eingriff. Bei dieser Vorstellung wurden das postoperative Ergebnis sowie eventuelle Komplikationen erfasst. Zur Evaluation des Therapieerfolgs postoperativ füllten die Patienten erneut die Fragebögen zu Inkontinenz und Lebensqualität (KHQ und ICIQ-SF) aus. Die Angaben der Patienten zur Verbesserung der Lebensqualität, verbrauchter Inkontinenzvorlagen und Häufigkeit der Inkontinenzepisoden wurden anhand der Fragebögen ausgewertet und zusätzlich in einem persönlichen Gespräch erfragt.

Sonographisch wurde die Blasenentleerung kontrolliert und die obligatorische Blutentnahme zur Proteinbestimmung durchgeführt. Analog zu den präoperativen Untersuchungen untersuchten wir den Urin auf Infektionen.

Bestanden sonographisch Restharmengen bis 200 ml wurde auf eine Katheteranlage verzichtet und ein erneuter Kontrolltermin nach 4-6 Wochen vereinbart. Mit allen Patienten wurde eine erneute klinische Vorstellung erst bei Nachlassen der BoNT-A Wirkung bzw. andersweitiger urologischer Probleme besprochen.

2.6.2 Weitere postoperative Kontrollen

Im Durchschnitt stellten sich die Patienten ca. 9 Monate nach der ersten BoNT-A Injektion mit zunehmendem Harndrang und erhöhter Miktionsfrequenz, welches sich auch im obligatorischen Miktionsprotokoll widerspiegelte, vor. Erneut erfolgte die Untersuchung wie in der ersten präoperativen Vorstellung auf Infektionen mittels Urindiagnostik und sonographischer Kontrolle der Blasenentleerung sowie eine Blutabnahme inklusive der Zusatzröhrchen für die Proteinbestimmung. Patienten wurden klinisch untersucht, auf eine erneute Urodynamik wurde bei eindeutigem klinischem Bild im Regelfall verzichtet.

2.7 Erfassung der Lebensqualität

Die Diagnosestellung der überaktiven Blase erfolgte klinisch. Mittels standardisierter Fragebögen sowie einer urodynamischen Untersuchung (siehe 2.3.3) wurde die Diagnose bestätigt.

2.7.1 Fragebögen

Zur besseren Erfassung der Lebensqualität und der Form der Blasenentleerungsstörung wurden verschiedene validierte Fragebögen eingesetzt. Für diese Studie wurden auf Empfehlungen der internationalen Kontinenzverbände (Kelleher, Cardozo, Khullar, & Salvatore, 1997) der ICIQ-SF (Screening Questionnaire for Incontinence, short form der International Consultation on Incontinence) und der King's Health Questionnaire eingesetzt (KHQ).

a) ICIQ-SF

Mit Hilfe von vier Fragen werden die Häufigkeit und Quantität von Harnverlust, die Urinverlust induzierenden Situationen und der Einfluss von Urininkontinenz auf die Lebensqualität erfasst. Der Test ist in mehr als 20 Sprachen verfügbar (s. Anhang 9.1)

b) KHQ

Der KHQ erfasst die Lebensqualität und umfasst neun Domänen des alltäglichen Lebens. Pro Frage innerhalb einer Domäne wird ein Punktwert vergeben, nach Auswertung des Tests kann über die Gesamtpunktzahl die Lebensqualität des Patienten beurteilt werden: Je höher die Punktzahl desto schlechter die Lebensqualität (s. Anhang 9.2).

c) Miktionsprotokoll

Die Patienten wurden gebeten, vor und nach dem Eingriff zur Quantifizierung der Miktionsmenge und -häufigkeit über mindestens 3 Tage ein 24-Stunden-Miktionsprotokoll zu führen. Die Trinkmenge sollte ebenfalls festgehalten werden, ging aber nicht in die Studiauswertung mit ein.

2.8 Urodynamische Untersuchung

Zum Ausschluss einer neurogenen Blasenentleerungsstörung, solitärer Belastungsinkontinenz bei Blasensenkung oder obstruktiver Miktions wurde bei allen Patienten präinterventionell eine Urodynamik durchgeführt. Hierzu sollten die Patienten vor der Untersuchung die Blase möglichst vollständig entleeren. Zu Beginn wurde durch einen Einmalkatheterismus in der Blase verbliebener Restharn gemessen und gegebenenfalls abgelassen. Anschließend folgte die langsame Blasenfüllung mit steriler Kochsalzlösung (NaCl 0,9%) bis 200 ml. Im Falle eines verfrüht einsetzenden Harndrangs wurde die Füllung vorzeitig unterbrochen.

Die weiblichen Teilnehmer erhielten vor der eigentlichen Urodynamik eine Harnröhrenkalibrierung bei gefüllter Blase, um eine Meatusstenose auszuschließen. Im Stehen und Liegen wurde ein Stresstest durchgeführt (Husten bei 200 ml Blasenfüllung) und nach Ingelmann-Sundberg eingeteilt.

Grad I	Tropfen im Stehen
Grad II	Strahl im Liegen oder Tropfen im Liegen
Grad III	Strahl im Liegen

Tabelle 2: aus: *Ingelmann-Sundberg classification of stress incontinence* (Schussler, 1990). Klinische Einteilung des Urinabganges beim Stresstest.

Zur weiteren Diagnostik eines eventuell gleichzeitig vorliegenden Descensus genitalis bei der Frau wurde eine Spekulumuntersuchung durchgeführt. Zum Abschluss der Voruntersuchung folgte eine sonographische Darstellung der Blasenmobilität. Die urodynamische Untersuchung der Frau ist in der Hochschulambulanz der Klinik für Urologie und Kinderurologie der Philipps-Universität Marburg zur Vereinfachung der Abläufe standardisiert.

Nach Ablassen der zuvor eingefüllten 200 ml Kochsalzlösung wurde für die Zystometrie ein dünner, zweilumiger Messkatheter (9 Charrière) zur Bestimmung der intravesikalen Drücke transurethral eingelegt und am Oberschenkel mittels Klebeband fixiert. Zur Beurteilung der Beckenbodenaktivität wurden zwei Klebeelektroden jeweils rechts und links der großen Labien und eine Elektrode am Oberschenkel platziert. Eine rektale Messsonde diente der Messung des intraabdominellen Drucks. Über den zweilumigen Messkatheter wurde nun physiologische Kochsalzlösung in einer Geschwindigkeit von 50 ml/min kontinuierlich bis zum Erreichen der individuellen maximalen Blasenkapazität infundiert. Die maximale Füllrate betrug ca. 800 ml. Die Patienten wurden gebeten, sich bei Auftreten eines ersten Harndranges und dem Gefühl einer vollen Blase zu melden. Während der gesamten Füllungsphase wurden die Patienten in Abständen von ca. 50 ml gebeten zu Husten. Eventuelle Urinabgänge durch diesen Reiz wurden markiert, ebenfalls konnten durch Hustenstöße getriggerte Detrusorüberaktivitäten aufgezeichnet werden. Bei Erreichen der individuellen maximalen Blasenkapazität wurden die Patienten aufgefordert, möglichst entspannt zu urinieren.

Hierbei wurden die Miktionsmenge, die minimale und maximale Harnflussrate (Volumen pro Zeiteinheit), die Detrusordrücke sowie die Beckenbodenaktivität aufgezeichnet.

Die Zystometrie diente der Beurteilung der Druckverhältnisse in der Blase während der Füllungsphase und Miktion. Die Miktiometrie zur Untersuchung der Druck-Fluss-Verhältnisse am Ende der Untersuchung gaben Aufschluss über mögliche obstruktive Blasenentleerungsstörungen, Restharnbildung oder gesteigerter Detrusordrücke. Auf ein Urethradruckprofil wurde in diesen Untersuchungen verzichtet.

Die urodynamische Messung wurde mit dem Ellipse-System (Firma Andromeda, Medizinische Systeme, Deutschland) durchgeführt und über die firmeneigene AUDACT Pro-Analysesoftware ausgewertet.

2.9 Proteinbestimmung

2.9.1 Serumgewinnung für NGF und PGE2

Den Patienten wurden für beide Proteinbestimmungen 4 Wochen vor und 4 Wochen nach Therapie Vollblutproben à 10 ml in Serum-Gel-Röhrchen (S-Monovette® der Firma Sarstedt, 92 x 15mm) entnommen. Nach Gerinnung des Blutes bei Raumtemperatur für 30 Minuten wurde das Serum bei 3500 rounds per minute (rpm) für 10 Minuten bei 4°C vom Koagulat getrennt. Das Serum wurde in Eppendorf-Röhrchen (1ml) überführt und bis zur weiteren Verwendung bei -80°C eingefroren.

Zur Bestimmung der Konzentrationen von NGF und PGE2 wurden kommerziell erwerbliche Labor - Kits (Ray Biotech®, USA und R & D Systems®, USA) verwendet. Die Testdurchführung erfolgte jeweils nach Herstellerangaben.

Das Detektionslimit der ELISA-Kits lag für NGF bei > 14 pg/ml und für PGE2 bei >16 bis 41 pg/ml.

2.9.2 Humanes β -NGF ELISA Kit (Ray Biotech®)

Reagenzien

1. β -NGF-Mikrotiterplatte (96 wells): mit Anti-humanem β -NGF Antikörper beschichtet
2. Waschpufferlösung: 25 ml, 20-fach konzentriert
3. 2 Ampullen rekombinantes humanes β -NGF
4. Probenverdünner: 15 ml, 5-fach konzentriert
5. 2 Ampullen biotinylierter Anti-humaner β -NGF Antikörper
6. HRP-konjugiertes Streptavidin-Substrat: 200 μ l, 800-fach konzentriert
7. TMB one - step Substrat (3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidin): 12 ml
8. Stopplösung: 8 ml 0,2M H₂SO₄

Für den Nachweis der Immunglobuline wurden 100 μ l der verdünnten Serumprobe und 100 μ l einer zuvor angefertigten Standardlösung mit rekombinantem humanem β -NGF in eine Mikrotiterplatte pipettiert und für 2,5 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Die Platte wurde vier Mal mit Waschpuffer gewaschen und anschließend wurden 100 μ l des biotinylierten Sekundärantikörpers anti-humanes β -NGF aufgetragen. Die Platte wurde für 45 min bei Raumtemperatur schüttelnd inkubiert. Nach erneutem Waschen wurden 100 μ l TMB one-step-Substratlösung aufgetragen und für 30 Minuten lichtgeschützt und schüttelnd inkubiert. Die Farbreaktion wurde durch Zugabe von 50 μ l 0,2M H₂SO₄ gestoppt und bewirkte einen Farbumschlag von blau nach gelb. Die Absorption wurde anschließend bei 450 nm in einem Absorptionsphotometer gemessen und mittels Photometersoftware analysiert.

2.9.3 Prostaglandin E2 Assay (R & D Systems®)

Reagenzien

1. Mikrotiterplatte: Ziege Anti-Maus PGE2 beschichtet
2. PGE2-Standard: 1 Ampulle mit 25.000 pg lyophilisiertem PGE2
3. HPR-konjugiertes PGE2: 6 ml
4. Antikörperlösung: 6 ml monoklonaler Mausantikörper
5. Kalibratorlösung: 21 ml Puffer
6. Waschpuffer: 21 ml, 25-fach konzentriert
7. Farbreagenz A: 12,5 ml Wasserstoffperoxid
8. Farbreagenz B: 12,5 ml TMB-Lösung (Tetramethylbenzidin)
9. Stopplösung: 11 ml H₂SO₄

Zur Durchführung des Assays wurden zunächst die Serumproben mit der Kalibratorlösung 3-fach verdünnt. Für den Nachweis der Immunglobuline wurden dann 200 µl Kalibratorlösung in die unspezifisch bindenden Vertiefungen pipettiert, 150 µl in die für den Null-Standard vorgesehenen Vertiefungen. Anschließend wurde in alle Vertiefungen 150 µl Serum hinzugefügt. In alle nicht spezifisch bindenden Vertiefungen wurden nun 50 µl monoklonaler Anti-Maus-Antikörper hinzugefügt. Ein Farbumschlag zu Blau konnte beobachtet werden. Nach einer Stunde Inkubation bei Raumtemperatur unter leichtem Schütteln wurde ohne vorige Waschung 50 µl HRP-konjugiertes PGE2 in alle Vertiefungen pipettiert, ein Farbumschlag zu Violett war erkennbar. Nach erneuter 2-stündiger Inkubation bei Raumtemperatur unter leichtem Schütteln wurde die Platte 4x mit Waschpuffer gewaschen, jegliche Flüssigkeit wurde anschließend entfernt. Nach Zugabe von 200 µl der zuvor gemischten Farbreagenzien und Inkubation über 30 Minuten lichtgeschützt wurden 100 µl Stopplösung hinzugefügt. Ein Farbumschlag von Blau zu Gelb trat ein, die Lichtabsorption wurde sofort bei 450 nm in einem Absorptionsphotometer gemessen und mittels Photometersoftware analysiert.

3.0 Datenauswertung

Die Datensammlung und statistische Datenauswertung erfolgte mit Excel (Microsoft®) und SPSS®-Software für Windows, Version 18. Für unabhängige Stichproben wurde der nicht-parametrischen Mann-Whitney-U-Test, für verbundene Stichproben der Student's t-Test durchgeführt und ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt. Die Angaben erfolgen \pm Standardabweichung und minimalem/maximalem Messwert.

Die standardisierten Fragebögen wurden nach Verfasserangaben ausgewertet.

4 Ergebnisse

4.1 Patientengruppen

4.2.1 Patienten NGF

Hierbei gaben 26 Patienten (21 Frauen, 5 Männer, mittleres Alter 66,5 Jahre, 28-83 Jahre) Symptome einer idiopathischer OAB an. Davon gaben 18 Patienten Inkontinenz (OAB wet) und 8 Patienten fehlende Inkontinenz (OAB dry) an. Bei allen Patienten hatten die bisherigen konservativen Maßnahmen versagt und eine anticholinerge Therapie wurde aufgrund von Nebenwirkungen bzw. Wirkungslosigkeit abgebrochen. Alle Patienten waren zum Zeitpunkt der Untersuchung BoNT-A naiv.

4.2.2 Patienten PGE2

56 Patienten (48 Frauen, 8 Männer, mittleres Alter 52 Jahre, 18-87 Jahre) mit den typischen Symptomen der OAB wurden in die Studie eingeschlossen.

Zu Beginn wurde bei 56 Patienten PGE2 im Serum bestimmt. Hiervon waren 44 Patienten von einer OAB wet und 12 von einer OAB dry betroffen. 4 Wochen nach der BoNT-A Applikation war es möglich bei insgesamt 30 der initial 56 Patienten (53,6%) sPGE2 erneut zu bestimmen.

Auch hier waren alle Patienten BoNT-A naiv, alle konservativen Maßnahmen zur Therapie der OAB waren ausgeschöpft.

4.2.3 Kontrollgruppe

32 Gesunde (18 Frauen, 14 Männer, mittleres Alter 41 Jahre, 19-60 Jahre) ohne relevante Nebendiagnosen oder bestehende Miktionsymptomatik fungierten als Kontrollgruppe für beide Proteinbestimmungen.

4.3 Objektive Parameter sNGF

4.3.1 sNGF vor der Therapie

Die mittlere Konzentration für sNGF der OAB-Gruppe war mit 58,8 pg/ml (± 209 , range 0-1060, Median 4,5 pg/ml) im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 2,0 pg/ml ($\pm 5,5$, range 0-15, Median 0 pg/ml) signifikant erhöht ($p < 0,005$, siehe Abbildung 6).

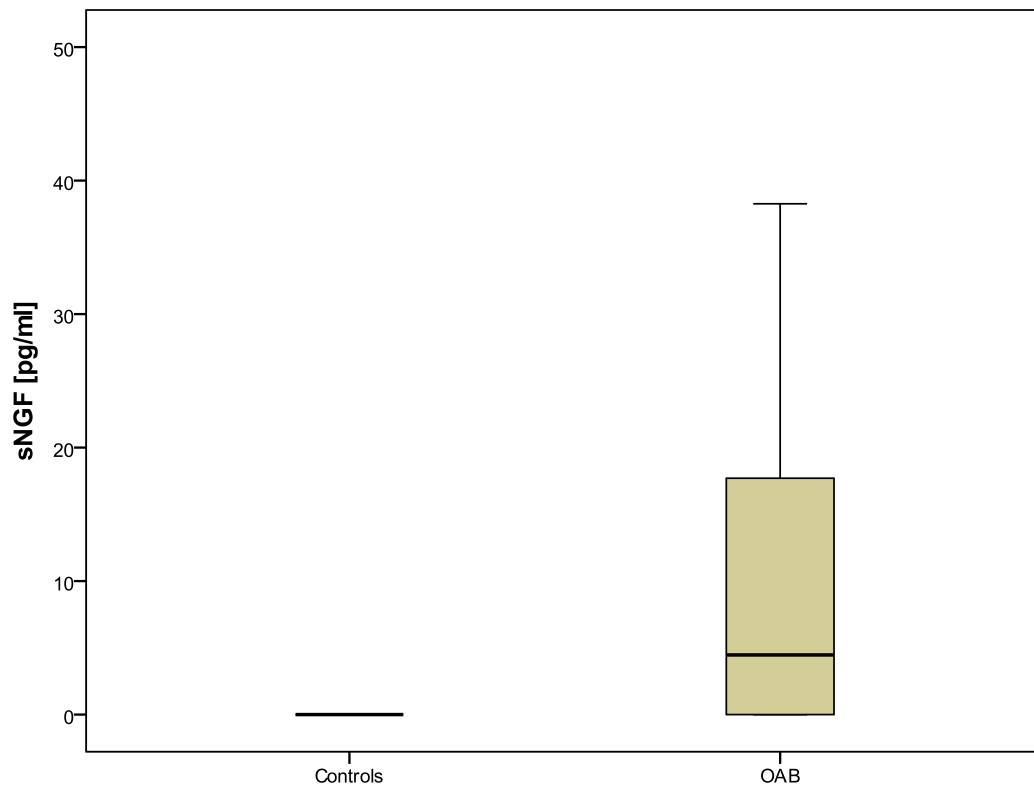


Abbildung 6: sNGF-Konzentration bei Gesunden (2 pg/ml) und erkrankten Patienten (58,8 pg/ml) vor BoNT-A Therapie ($p < 0,005$)

4.3.2 wet OAB versus dry OAB

Bei Patienten mit einer wet OAB (n=18) zeigten sich im Vergleich zu Patienten mit einer dry OAB (n=8) signifikant erhöhte mittlere sNGF-Spiegel (85 pg/ml (\pm 250) vs. 0,73 pg/ml (\pm 2,1), $p < 0,005$, siehe Abbildung 7).

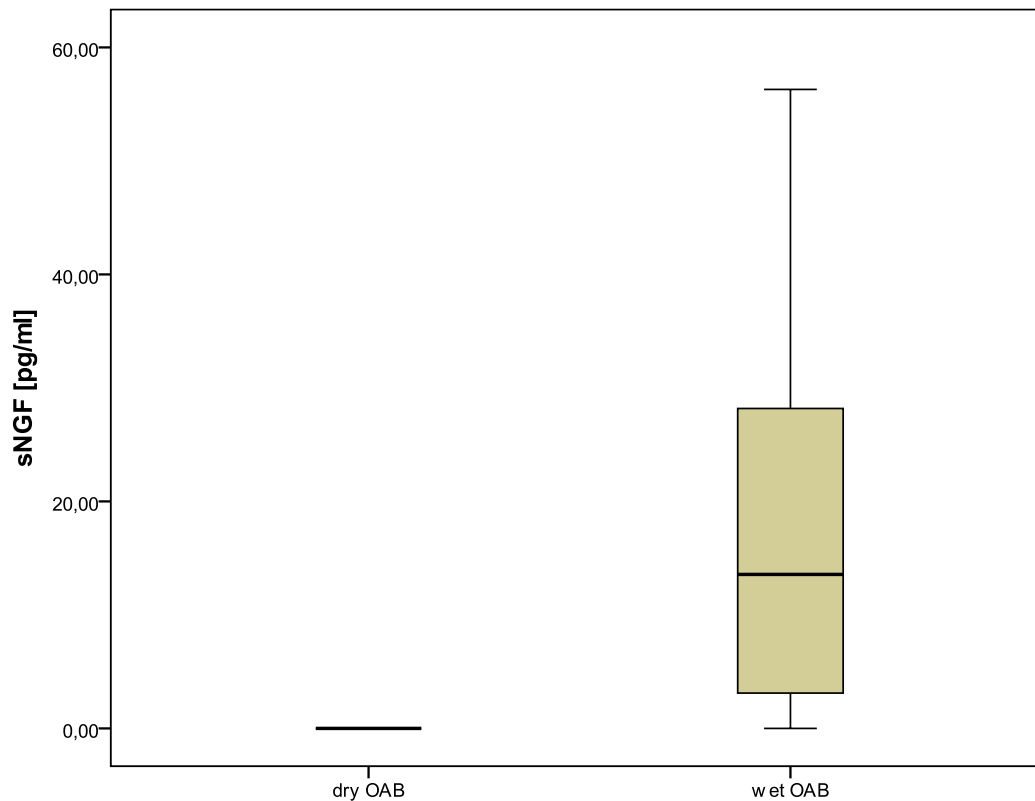


Abbildung 7: Vergleich OAB dry (0,73 pg/ml) und OAB wet (85 pg/ml) vor BoNT-A Therapie

4.3.3 sNGF und Lebensalter

Bezogen auf das Lebensalter zeigten Patienten bis 60 Jahre (n=7) im Vergleich zu Patienten über 60 Jahre (n=19) signifikant niedrigere mittlere sNGF-Spiegel (8,9 pg/ml (\pm 11,2) vs. 77,2 pg/ml (\pm 244), $p < 0,05$).

4.3.4 sNGF nach BoNT-A Therapie

4 Wochen nach BoNT-A Injektion zeigte sich ein signifikanter Abfall der mittleren sNGF-Konzentrationen (2,4 pg/ml (\pm 7,8)) verglichen mit den präoperativen Werten (58,8 pg/ml (\pm 209), $p < 0,005$, siehe Abbildung 8).

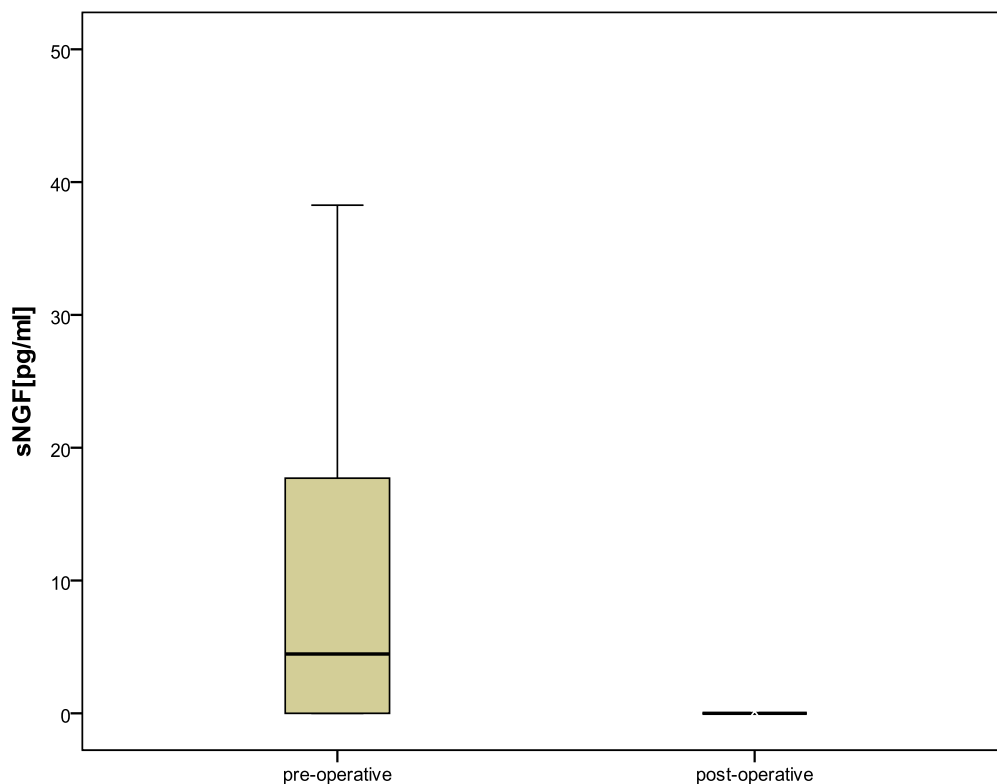


Abbildung 8: sNGF-Konzentration prä- (58,8 pg/ml) und postoperativ (2,4 pg/ml) bei OAB ($p < 0,005$)

Die Daten zu sNGF sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Gruppe	Anzahl	NGF [pg/ml \pm SD]	p-Wert
Kontrolle	32	2 (5,5)	<0,005 (vs.OAB)
OAB			
Prä-BoNT	26	58,8 (209)	<0,005
Post-BoNT	26	2,4 (7,8)	
OAB/wet	18	85 (250)	<0,005
OAB/dry	8	0,73 (2,1)	
Pat. \leq60	7	8,9 (11,24)	<0,05
Pat. >60	19	77,2 (244)	

Tabelle 3: Mittlere NGF-Werte der verschiedenen Gruppen und Sub-Gruppen

4.3.5 Non Responder

Bei 2 Patienten zeigte sich 4 Wochen nach BoNT-A Applikation kein ausreichender Erfolg der Therapie. Beide Patienten wiesen initial erhöhte sNGF-Spiegel (1060 bzw. 56 pg/ml) auf. Während bei einem Patienten der sNGF-Spiegel deutlich abfiel (12 pg/ml), konnte bei dem zweiten Patienten ein nur geringer sNGF Abfall nachgewiesen werden (37 pg/ml).

4.3.6 Ansprechen und Lebensqualität

Die übrigen 24 Patienten berichteten 4 Wochen postoperativ über ein sehr gutes Ansprechen auf BoNT-A, welches sich in einer deutlichen Verbesserung der Miktionsymptomatik als auch in der Lebensqualität (ICIQ-SF + KHQ) ausdrückte.

4.4 Objektive Parameter sPGE2

4.4.1 sPGE2 vor Therapie

Die mediane Serumkonzentration von PGE2 war bei OAB-Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht (2749,5 pg/ml, SD 2375,7, range 332-9422 vs. 1674,3 pg/ml SD 873, range 611-4038, $p < 0,005$, siehe Abbildung 9).

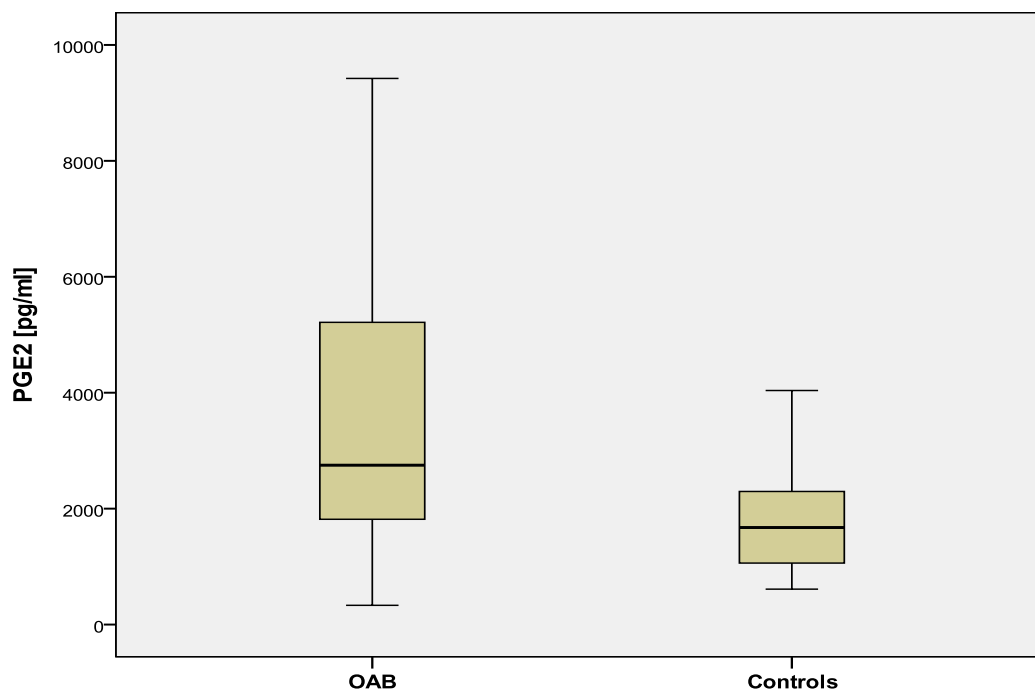


Abbildung 9: sPGE2-Konzentrationen OAB-Patienten versus Kontrollen ($p < 0,05$)

4.4.2 wet OAB versus dry OAB

Der Subgruppenvergleich zwischen den inkontinenten und kontinenten Patienten zeigte signifikant höhere sPGE2 Werte in der Gruppe der Patienten mit Inkontinenz. (3241 pg/ml versus 1734 pg/ml, $p < 0,01$, siehe Abbildung 10) .

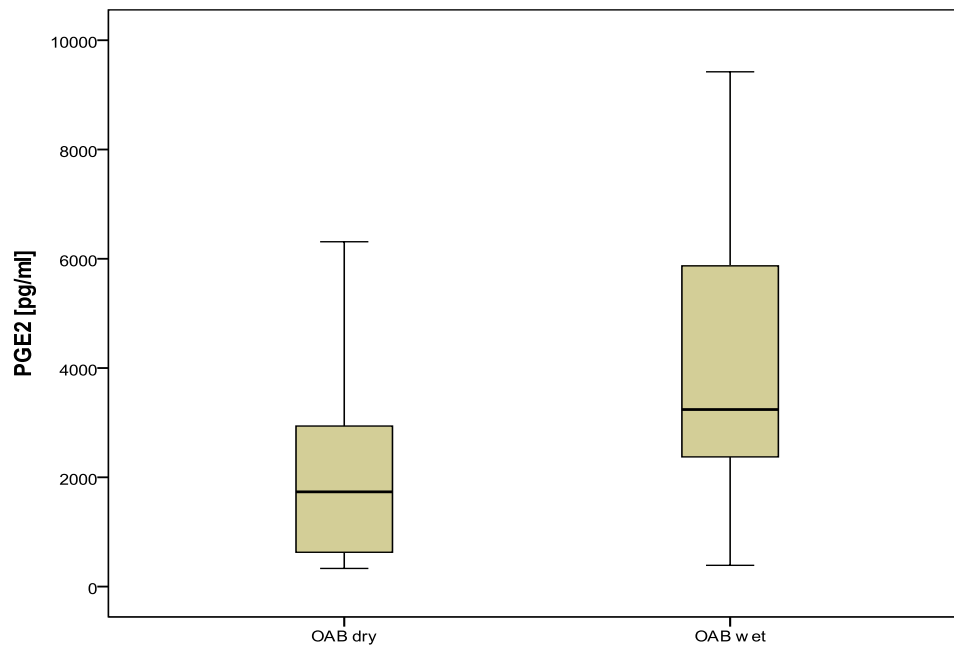


Abbildung 10: sPGE2-Konzentrationen bei OAB dry und OAB wet vor BoNT-A ($p < 0,01$)

4.4.3 sPGE2 und Lebensalter

Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Patientenalter und sPGE2 gefunden werden.

4.4.4 sPGE2 nach BoNT-A

Postoperativ konnte bei 30 Patienten nach der BoNT-A Applikation erneut sPGE2 bestimmt werden. Verglichen mit den initialen Werten zeigte sich ein signifikanter Abfall der Serumkonzentrationen von PGE2 4 Wochen postoperativ (2995 pg/ml, SD 2022, range 389-8861 versus 1486 pg/ml, SD 2414, range 201-11286; $p < 0,005$, siehe Abbildung 11).

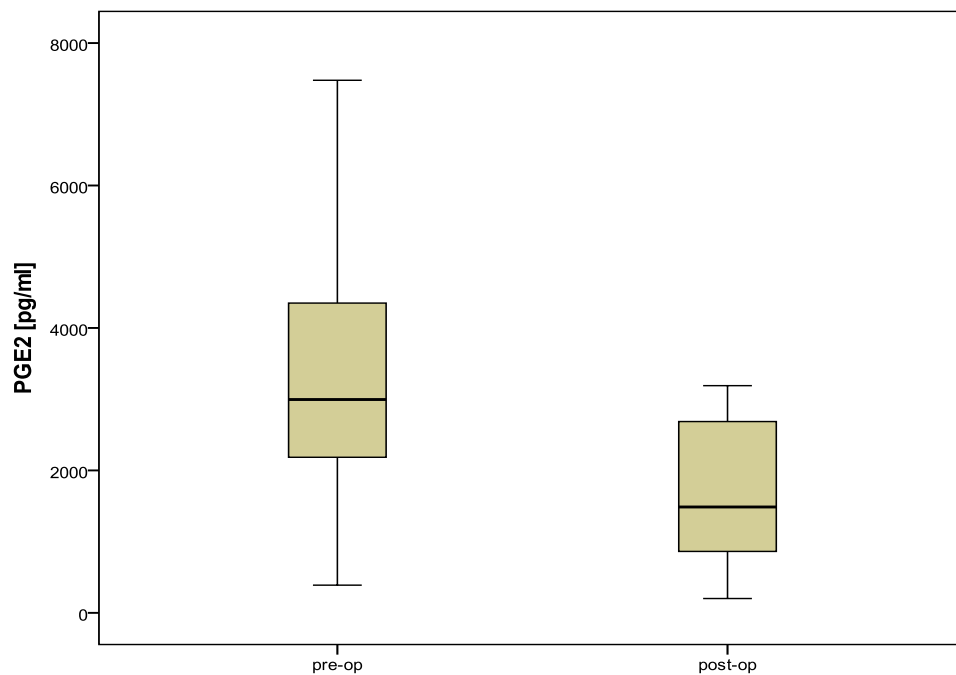


Abbildung 11: sPGE2-Konzentrationen prä- und 4 Wochen postoperativ ($p < 0.005$)

4.4.5 Non Responder

Drei Patienten (1,8%) zeigten kein Ansprechen auf die BoNT-A Therapie.

Bei 2 dieser 3 Non Responder (66,6%) zeigte sich ein postoperativer sPGE2 - Anstieg auf bis zu 51% der initial gemessenen sPGE2-Werte (Pat 1: 1815 pg/ml auf 2749 pg/ml (+51,5%) / Pat 2: 1797pg/ml auf 2333pg/ml (+29,8%)). Lediglich ein geringer sPGE2-Abfall ließ sich bei dem 3. Non Responder nachweisen (3677 pg/ml auf 2686 pg/ml (-27%)).

Die individuellen vergleichenden (prä/post) sPGE-2 Verläufe sind in Abbildung 12 dargestellt.

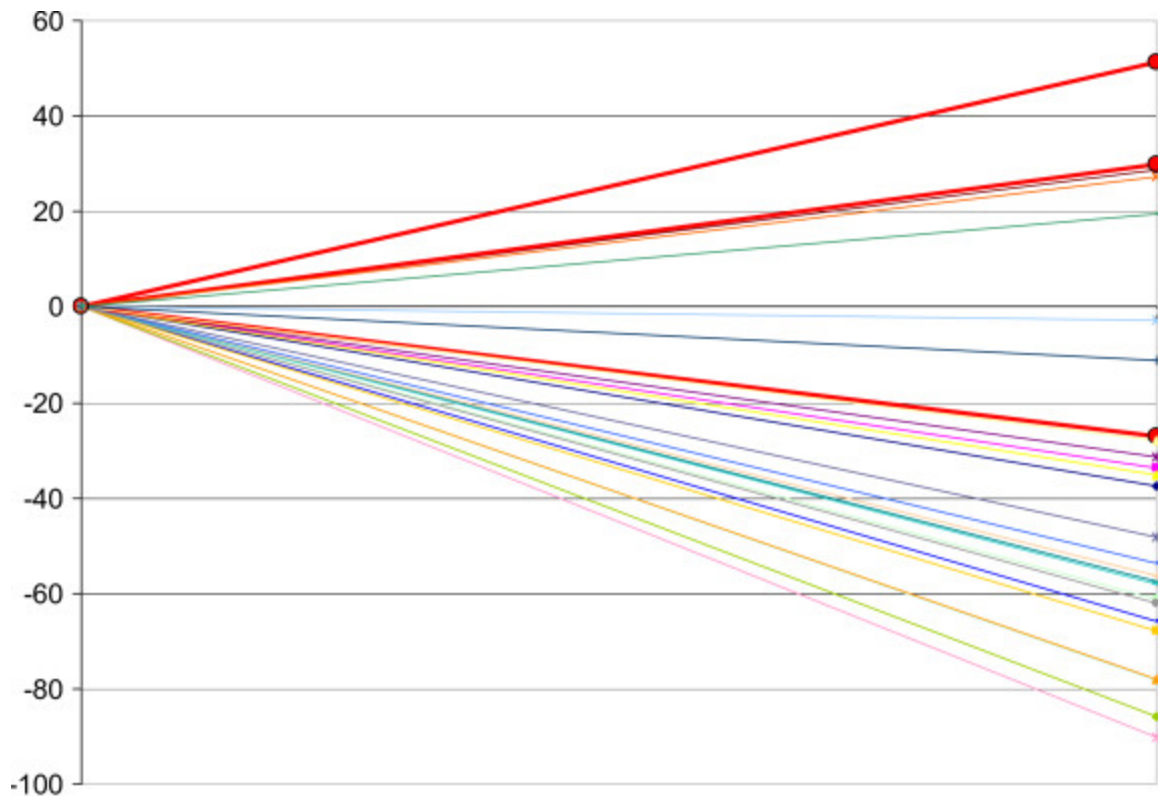


Abbildung 12: prozentualer Anstieg/Abfall von sPGE2 bei 30 Patienten 4 Wochen postoperativ (rote Linien: non responder)

4.4.6 Ansprechen und Lebensqualität

4 Wochen postoperativ konnte ein signifikanter Rückgang der Miktionsfrequenz ($p < 0,01$) sowie der Inkontinenzepisoden verzeichnet werden.

Inkontinenzvorlagen (4 (1-18) präoperativ vs. 1 (0-8) postoperativ) wurden signifikant weniger benötigt ($p < 0,05$). Die Patienten gaben in den Fragebögen eine signifikant verbesserte Lebensqualität in allen Lebensbereichen (Alltag, soziales und physisches Erleben, emotional, partnerschaftlich, Schlaf, Miktionsverhalten) an.

4.4.7 BoNT-A Wirkdauer

Die mittlere Wirkdauer von BoNT-A lag in unserer Untersuchung bei durchschnittlich 9 Monaten und korrelierte mit den gesunkenen sPGE2-Werten. Die Patienten mit einer kürzeren Wirkung (< 9 Monate) zeigten einen signifikant geringeren sPGE2 - Abfall postoperativ (22%) verglichen mit Patienten, die einen längeren Therapieeffekt (> 9 Monate) aufwiesen (57%, $p < 0,05$, siehe Abbildung 13).

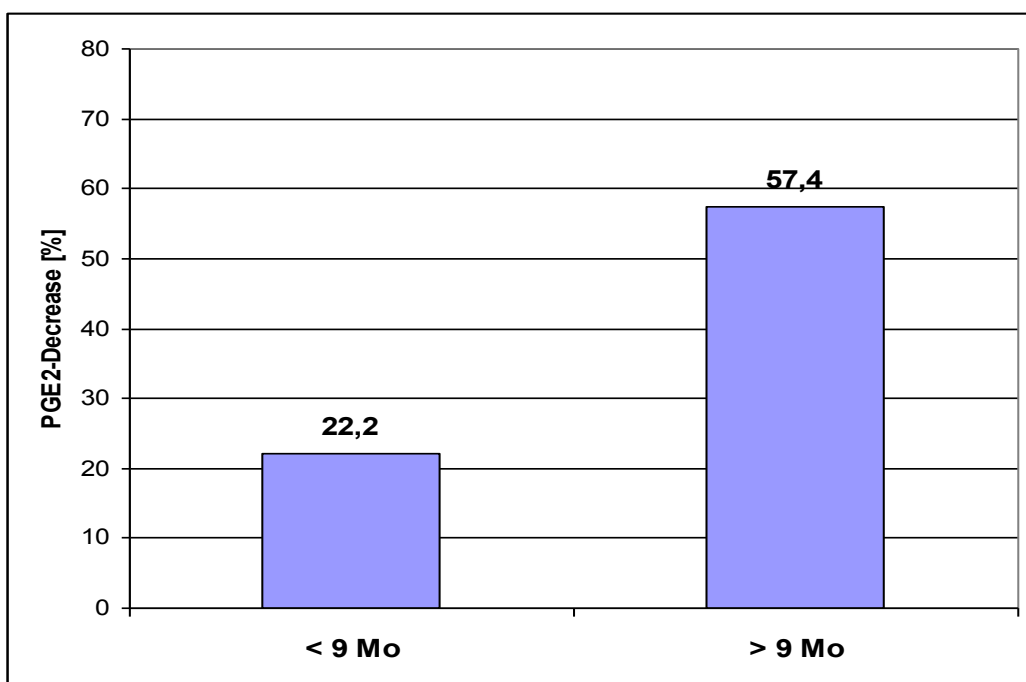


Abbildung 13: Prozentuale Darstellung des sPGE2-Abfalls nach BoNT-A in Korrelation zur mittleren BoNT-A Wirkdauer (9 Monate, $p < 0,05$)

6 Patienten (5 Frauen und 1 Mann, mittleres Alter 63,7 Jahre, range 40-76) berichteten über eine erneute deutliche Zunahme von Harndrang und Miktionsfrequenz nach einer medianen Wirkzeit von 8,5 Monaten (range 6-12). Erneute sPGE2-Messungen bestätigten einen Wiederanstieg bei nachlassender BoNT-A Wirkung. Nach einer zweiten Therapiesitzung fielen die Serumwerte 4 Wochen postoperativ erneut ab.

5 Diskussion

OAB ist eine Erkrankung der Harnblasenfüllung. Während der Füllungsphase wird durch Dehnung des Urothels Stress auf den Detrusor ausgelöst, es kommt physiologisch zur Ausschüttung von verschiedenen Transmittern. Im Falle von pathologischen Blasenentleerungsstörungen konnten speziell einzelne Entzündungsmediatoren nachgewiesen werden. Insbesondere sind hierbei NGF und PGE2 in Kombination mit ATP, NO und ACh in den Fokus der intensiven Forschung getreten. NGF und PGE2 scheinen Hinweise auf eine Entzündungskomponente bei Blasenentleerungsstörungen zu geben. Im Folgenden werden unsere Ergebnisse anhand der bereits in der Literatur erhobenen Daten diskutiert.

5.1 Patientenkollektive

Die jeweiligen Patientenkollektive von 26 (NGF) und 56 (PGE2) Patienten sind vergleichsweise klein. Dies ist unter anderem auf die immer noch hohe Dunkelziffer der tatsächlich unter OAB leidenden Patienten zurückzuführen. Durch die fortbestehende Tabuisierung der Blasenentleerungsstörungen fehlt vielen Patienten der Mut, sich in Behandlung zu begeben sowie der Zugang zu weiteren Therapieinformationen, da oftmals im Bekannten- oder Verwandten-/Freundeskreis, gerade in ländlichen Gebieten, über diese Problematik nicht gesprochen wird ("das verschwiegene Problem"). Viele Patienten befinden sich meist jahrelang in urologischer oder gynäkologischer Behandlung und werden auf weitere Maßnahmen außerhalb der konservativen Therapie nicht hingewiesen. Bereits informierte Patienten (z.B. durch das Internet), häufig weiblich, wünschen sich einen operativen Eingriff zur Problembehebung, der oftmals jedoch nicht die korrekte Behandlungsmethode darstellt, da nicht jede Form der Blasenentleerungsstörung auf eine Senkungsproblematik zurückzuführen ist. Ein weiteres Rekrutierungsproblem war zu Beginn der Studie die noch nicht zugelassene Behandlung mit BoNT-A zur Behandlung der OAB. Obwohl seit Jahren erfolgreich bei neurogenen Blasenentleerungsstörungen eingesetzt, fehlten bis Ende 2012 ausreichende Datensätze zur vollständigen Zulassung des Medikaments bei neurogenen und nicht neurogenen Blasenentleerungsstörungen.

Meist wurde die BoNT-A Applikation erst von sehr verzweifelten Patienten akzeptiert (Anmerkung: seit Januar 2013 ist BoNT- A zur Therapie der OAB über die Firma Allergan offiziell zugelassen).

Im Vergleich zur existenten Literatur finden sich aber auch selten Studien mit Patientenkollektiven >30 Personen. Erst 2013 wurden die Zulassungsstudien mit größeren Patientenkollektiven publiziert (Chapple et al., 2013; Sievert et al., 2014). Hierauf wird unter Punkt 5.4 noch näher eingegangen.

5.2 Dysport

In unseren Patientenkollektiven verwendeten wir zur Therapie der OAB die BoNT-A Formulierung Dysport® (Firma Ipsen, Ettlingen, Deutschland). Zum Zeitpunkt der Datenerhebung war die Injektion in den Detrusormuskel nur als Off-label-Therapie zugelassen. Die aktuelle Datenlage zeigt keine signifikanten Unterschiede in der Behandlung von Blasenentleerungsstörungen zwischen Onabotulinumtoxin A (Botox®, Firma Allergan) und Abotulinumtoxin A (Dysport®, Firma Ipsen) (Ravindra, Jackson, & Parkinson, 2013). Die Therapie mit Dysport war zur Studienzeit in der Klinik bereits etabliert.

5.3 OP-Methode

Die Operation wurde von 2 verschiedenen erfahrenen Operateuren durchgeführt, so dass eine Lernkurve der Operateure bei der Erhebung der Ergebnisse außer Acht gelassen werden kann.

Nach internationalen Empfehlungen wurde wie bereits beschrieben (Punkt 2.2) die Injektion über eine Zystoskopie in lokaler Anästhesie oder auf Wunsch in Vollnarkose durchgeführt.

5.4 Lebensqualität

2013 wurde nach mehrjähriger positiver Erfahrung (off-label) mit BoNT-A bei Blasenentleerungsstörungen Onabotulinumtoxin A (Botox®, Firma Allergan) als Therapie bei nicht-neurogenen Blasenentleerungsstörungen zugelassen. Chapple et al. untersuchten über 400 Patienten nach frustranter anticholinergischer Therapie in einer multizentrischen, doppelblinden und randomisierten, plazebokontrollierten Phase-III-Studie auf eine gebesserte Symptomatik die OAB betreffend. Zur objektiven Erfassung der o.g. Kriterien wurde in dieser Studie unter anderem der King's Health Questionnaire (KHQ) verwendet. Dieser umfasst wie unter Punkt 2.7 genannt Fragen zum Gesundheitszustand sowie zu Einschränkungen im täglichen Leben, bei körperlichen und sozialen Aktivitäten, in persönlichen Beziehungen, den Gefühlszustand sowie Beeinträchtigungen des Schlafs durch Inkontinenz/häufiges Miktieren und wie sehr sich die Patienten durch die Blasenentleerungsstörungen im allgemeinen beeinträchtigt fühlen. Der Fragebogen ist mehrfach validiert und kann als zuverlässig bezeichnet werden (Margolis, Vats, Coyne, & Kelleher, 2011). Bei allen Patienten war nach Instillation von 100 IE BoNT-A eine signifikant gebesserte Lebensqualität im Vergleich zur Plazebogruppe nachweisbar (Chapple et al., 2013). Die Autoren vermuten die Wirkung von BoNT-A wie bereits dargestellt über eine Modifikation der afferenten und efferenten neuronalen Miktionskontrolle.

Wir erfassten in unserer Studie die weiteren subjektiven Parameter ebenfalls anhand standardisierter und von der ICS empfohlener Fragebögen. Zusätzlich zum o.g. KHQ verwendeten wir den ICIQ-SF (International Consultation on Incontinence Questionnaire - short form), der wie unter Punkt 2.7 genannt mit vier Fragen die Häufigkeit und die Quantität des Urinverlusts, die Situationen, in denen es zum Harnverlust kommt sowie die daraus folgende Beeinträchtigung des Alltags erfasst. Auch hier sind die Testkriterien gerade bei der Erfassung der OAB-Symptome mehrfach validiert (Avery et al., 2004).

Wir konnten ebenfalls in beiden Studienkollektiven eine signifikante Besserung der Lebensqualität durch geminderten Harndrang, geringere Miktionsfrequenz und

geringeren Vorlagenverbrauch nachweisen. Trotz der geringen Patientenzahlen decken sich auch hier die Daten mit der plazebokontrollierten Studie von Chapple.

5.5 sNGF und sPGE2 > 60 Jahre

Wie in der Einleitung bereits beschrieben sind die Serumwerte für NGF bei Pat. über 60 Jahren und OAB deutlich höher als bei jüngeren Erkrankten (Irwin et al., 2006). Im Gegensatz zu Ergebnissen von Liu fanden sich in unserem NGF-Studienkollektiv jüngere Patienten (<60 Jahre) mit im Mittel geringeren sNGF-Spiegeln als Patienten > 60 Jahre (Liu, Chen, & Kuo, 2011). Dies war bei den erhobenen sPGE2-Werten nicht der Fall.

5.6 Non Responder

Beide Patientenkollektive wiesen 4 Wochen postoperativ Patienten ohne ein ausreichendes Ansprechen auf die Therapie auf (sNGF n=2, sPGE2 n=3). Non Responder zeigten sogar einen sPGE2-Anstieg oder einen nur sehr geringen Abfall der Werte. Diese Beobachtung im Verlauf nach BoNT-A Applikation bei OAB ist bis dato nicht in der Literatur beschrieben worden.

5.7 NGF und PGE2

Bei der Erforschung von NGF als Entzündungsmediator konnte in mehreren Studien ein direkter Zusammenhang zwischen Zytokininduktion und NGF und/oder immunregulierenden Prozessen nachgewiesen werden. NGF bewirkt über Mastzellen die Freisetzung von Prostaglandin E2, Histamin sowie Serotonin. Diese führen allgemein zu einer Sensibilisierung der Nozizeptoren und können Schmerz oder Entzündungen auslösen (Taiwo & Levine, 1990), die T-Lymphozytensynthese im menschlichen Körper ist unter Einfluss von NGF deutlich gesteigert (Manning, Russell, Simmons, & Johnson, 1985).

Liu et al. gingen davon aus, dass bei Patienten mit chronischen Blaseninfektionen Entzündungsparameter im Urin oder Urothel messbar sein müssten und untersuchten 122 Patienten mit chronischer Zystitis und chronischem

Beckenschmerzsyndrom auf erhöhte Konzentrationen von NGF im Urin (Liu, Tyagi, Chancellor, & Kuo, 2009).

Da erhöhte Werte nachgewiesen werden konnten erweiterte sich die Forschung auf die OAB. Kuo et al. konnten bei symptomatischen OAB-Patienten eine Erhöhung von NGF im Urin und Blut nachweisen (Kuo, Liu, & Chancellor, 2010). Dies führte zu der Annahme, dass NGF auch eine Rolle bei der physiologischen Blasenentleerung spielen kann.

Die Autoren testeten die NGF-Konzentration im Urin vor und nach Blasendistension, ein Absinken der NGF-Werte sowie eine signifikante Reduktion der subjektiven Symptome konnten gemessen werden (Liu et al., 2009).

Neben NGF scheint PGE2 als Entzündungsmediator eine wichtige Rolle zu spielen. Die Prostaglandinsekretion wird mitogen- oder inflammatorisch im gesamten menschlichen Organismus physiologisch induziert. Typischerweise ist PGE2 bei Karzinomen, Herz- Kreislauferkrankungen, Infektionen sowie Erkrankungen des Harntraktes erhöht (Narumiya et al., 1999).

In der Blase wird es - wie NGF auch - speziell vom Urothel, glatter Muskulatur (Masunaga et al., 2006; Pinna et al., 2000), Neuronen und Gliazellen produziert (Maggi et al., 1988; Narumiya et al., 1999).

Zur Bestimmung der näheren Funktion von PGE2 bei der Blasenentleerung wurde Ratten PGE2 in die Blase instilliert. Das Prostaglandin triggerte intravesikal phasische Detrusorkontraktionen (Schroder, Newgreen, & Andersson, 2004b), während topische Applikation in die Urethra zu Relaxation ebendort führte (Yokoyama et al., 2007). Weitere Studien konnten an Ratten mit ausgeprägtem Schaden der urothelialen Barriere, z.B. durch Infektionen des unteren Harntraktes mit *Escherichia coli*, eine herabgesetzte Blasenkapazität (Weng, Chen, Wu, & Liu, 2006) mit erhöhten PGE2-Leveln im Urin nachweisen (Wheeler, Hausladen, Yoon, & Weiss, 2002). McCafferty et al. testeten nach diesen Erkenntnissen OAB-Patienten auf PGE2 im Urin und konnten signifikant erhöhte Werte nachweisen. Zusätzlich stellten die Autoren eine negative Korrelation von erhöhten PGE2-Werten zur maximalen Blasenkapazität fest (McCafferty, Misajet, Laping, Edwards, & Thorneloe, 2008b).

In unseren Studienkollektiven fanden wir im Vergleich zu den o.g. Studien ebenfalls signifikant erhöhte Serumwerte für NGF und PGE2 im Serum. Die von uns untersuchten Patienten unterschieden sich nicht in den spezifischen Symptomen der OAB. Beide Patientenkollektive waren deutlich in ihrer Lebensqualität durch erhöhte Miktionsfrequenzen, Urgency und/oder Inkontinenzepisoden mit erhöhtem Vorlagenverbrauch eingeschränkt. Eine medikamentöse Therapie mittels Anticholinergika und konservativen Maßnahmen war bis zur Studienteilnahme erfolglos, andere Erkrankungen wurden vor Studienbeginn ausgeschlossen. Analog zu den o.g. Studien untersuchten wir unterschiedliche Endpunkte (OAB wet/dry, Alter der Patienten, Lebensqualität). Sowohl in der NGF- als auch in der PGE2- Gruppe ließen sich signifikante Unterschiede der mittleren Serumkonzentrationen beider Proteine zwischen den einzelnen Subgruppen (OAB wet vs OAB dry) feststellen. Hier fanden sich die höchsten Serumkonzentrationen bei Patienten mit imperativem Harndrang und erhöhter Miktionsfrequenz sowie Inkontinenz (OAB wet). Außerdem bestanden in unseren Messungen individuell relativ große Unterschiede in den sNGF-Konzentrationen. Der größte Unterschied ließ sich zwischen der Messgruppe wet OAB (range \pm 209) und Patienten älter als 60 Jahre (range \pm 244) vor BoNT-A-Therapie nachweisen. Dieses Phänomen der individuell sehr ausgeprägten NGF-Schwankungen zeigte sich auch bei Messungen im Urin (Liu, Chancellor, & Kuo, 2009b). Eine Korrelation zwischen der Schwere der klinischen Symptomatik und Höhe der sNGF-Konzentrationen ließ sich in unserem Kollektiv nicht feststellen.

Kuo et al. zeigten in einem Patientenkollektiv mit unterschiedlichen Erkrankungen (OAB wet/dry, Detrusorüberaktivität, benignem Prostatasyndrom und gemischter Inkontinenz) erhöhte NGF-Werte im Urin (Kuo et al., 2010). Die Studie zeigte bei allen Krankheitsformen signifikant erhöhte NGF-Werte vor Beginn der Therapie mit einem Anticholinergikum im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Um eine möglichst hohe NGF-Konzentration im Urin zu erhalten wurde der Urin vor der Untersuchung bei subjektiv voller Blase und dringendem Miktionswunsch abgenommen. Anschließend erfolgte die Verdünnung der Proben nach Herstelleranweisung, die NGF-Konzentration wurde angepasst an die zuvor gemessenen Kreatinin-Werte im Urin gemessen.

Laut Herstelleranweisung des von uns verwendeten ELISA-Kits ist vor der eigentlichen Messung von NGF im Urin eine vom Untersucher angenommene Konzentration des Proteins anzugeben, anhand derer eine Verdünnungsreihe anzufertigen ist. Ist die angenommene NGF-Konzentration falsch eingeschätzt, lässt sich im verdünnten Urin kein NGF mehr nachweisen. Nach mehrfachen Verdünnungsversuchen konnten wir trotz einer NGF-Sensitivität von <14 pg keine Ergebnisse in der Urinmessung verzeichnen. Die oben genannten Studienergebnisse von Kuo decken sich mit den von uns gemessenen Serumwerten für NGF- und PGE2 bei Patienten mit OAB.

5.8 NGF und PGE2 unter Therapie

Die internationalen Leitlinien zur Therapie der OAB empfehlen initial konservative Maßnahmen und anticholinerge Medikation (DGGG, 2010). Obwohl viele Präparate mit mittlerweile geringer Nebenwirkungsrate zur Verfügung stehen, muss die orale Therapie häufig aufgrund von Nebenwirkungen wie Mundtrockenheit oder Obstipation abgesetzt werden (Sexton et al., 2011). Um neue Therapieansätze für die OAB zu finden testete Liu die Auswirkungen einer anticholinergen Therapie auf die NGF-Konzentrationen im Urin bei 70 Patienten mit OAB. Nach 3 Monaten waren bei 50 Patienten signifikant rückläufige NGF-Werte messbar (Liu, Chancellor, & Kuo, 2009a). Unter Therapie bestand zudem neben der reduzierten Miktionsfrequenz ein gesteigertes Miktionsvolumen. 20 Patienten sprachen auf die Therapie nicht ausreichend an. Nach einem Monat Therapiekarenz konnte bei 23 der 50 Patienten erneut ein NGF-Anstieg gemessen werden, ebenso bei 5 der eigentlich initialen Non Responder. Kim et al. testeten Veränderungen von NGF und PGE2 unter anticholinergem Therapie in Abhängigkeit von subjektiver Symptomlinderung. Interessant ist hier, dass lediglich bei Patientinnen mit signifikant geminderten Symptomen eine NGF-Reduktion nachweisbar war, PGE2 jedoch keine signifikanten Veränderungen unter anticholinergem Therapie zeigte (Kim et al., 2005).

Da eine erhöhte NGF-Konzentration im Urothel bei neurogenen Blasenentleerungsstörungen bereits mehrfach nachgewiesen wurde, kam Giannantoni auf die Idee, zunächst an 23 Patienten nach Spinalkanalverletzung und mit urodynamisch nachweisbaren Detrusoraktivitäten die Auswirkungen einer Therapie mit BoNT-A auf die urotheliale Proteinkonzentration zu testen. Alle Patienten erhielten ab Beginn der Studie Oxybutinin 5 mg 3 x täglich, auch nach BoNT-A-Injektion. Zystoskopisch wurden kalte Blasenbiopsien entnommen, anschließend 300 IE BoNT-A unter Aussparung des Trigonums an 30 verschiedene Stellen in die Blase injiziert. Nach 1 und 3 Monaten wurden erneut Urodynamiken und Blasenbiopsien mit dem Ergebnis einer signifikant abgefallenen NGF-Konzentration in der Blasenwand durchgeführt. Urodynamisch ließ sich eine gesteigerte Blasenkapazität sowie eine deutlich reduzierte Schwelle für autonome Detrusorkontraktionen nachweisen.

Die Autorin vermutet hier eine durch das Neurotoxin bedingte verminderte Detrusorkontraktilität durch vermindert sezerniertes ACh am präsynaptischen Spalt. Weiterhin wird eine Inhibition der Freisetzung von ATP und Substanz P durch die reduzierte Sekretion von ACh vermutet (Giannantoni et al., 2006). Die Autorin beruft sich auf *in vitro* Studien, die bereits den inhibierenden Einfluss von ATP auf die NGF-Sekretion nachweisen konnten (Tanner, Chambers, Khadra, & Gillespie, 2000). Sie diskutiert als weitere Wirkweise den Einfluss von BoNT-A als entzündungshemmend auf sensorische Nerven (Hemmung der Vasodilatation und damit des entzündlichen Ödems).

In einer zweiten Studie aus dem Jahr 2013 vergleicht die Autorin die BoNT-A-Auswirkungen an Patienten mit neurogener und idiopathischer Detrusorüberaktivität (DO). Das Ziel der Untersuchung ist neben dem Nachweis reduzierter NGF-Proteinwerte der Zusammenhang zwischen einer mutmaßlichen Modulation der NGF-Expression und Expression seiner spezifischen Rezeptoren in der Blase (TrkA, p75^{NTR} und TRPV1) durch das Neurotoxin BoNT-A. Patienten mit neurogener DO erhielten nach vorheriger kalter Blasenbiopsie 300 IE BoNT-A, der idiopathische Therapiearm 100 IE BoNT-A. Die zeitgleiche anticholinerge Therapie wird in dieser Studie nicht durchgeführt. Auch hier lässt sich wieder ein deutlicher Rückgang von NGF in den Blasenbiopsien einen Monat nach BoNT-A Injektion bei allen Patienten nachweisen (Giannantoni et al., 2013). Gleichzeitig war jedoch die Genexpression

von NGF, TRPV1, TrkA und p75^{NTR} signifikant gesteigert. Giannantoni vermutet eine durch das Neurotoxin modulierte NGF-Expression und gleichzeitig eine Expression NGF-assoziiierter Rezeptoren. Am ehesten soll dies durch eine geminderte NGF-Freisetzung auf post-transkriptionaler Ebene erklärbar sein (Giannantoni et al., 2013).

Beide Studien sind verhältnismäßig klein, so dass für beide die Untersuchungen an einem größeren Kollektiv wiederholt werden müssten, um repräsentative Ergebnisse zu erhalten.

Für PGE2 gibt es bis dato keine Untersuchungen bei OAB und BoNT-A Therapie, so dass unsere Arbeitsgruppe hierzu die ersten Daten präsentiert. Cho et al. untersuchten lediglich Veränderungen von PGE2 unter anticholinergischer Therapie im Urin. Die Autoren konnten trotz 4 Wochen langer Therapie keine signifikant geminderten PGE2-Werte im Urin feststellen (Cho, Kim, Koh, & Kim, 2013).

Unsere Daten präsentieren erstmals signifikante Veränderungen von PGE2 im Serum nach BoNT-A Therapie (Hegele et al., 2014). Gründe dieser unterschiedlichen Ergebnisse könnten das unterschiedliche Material (Urin/Plasma), welches untersucht wurde als auch die unterschiedliche Therapieform (BoNT-A/Anticholinergikum) sein.

Wir konnten postoperativ einen signifikanten Rückgang sowohl von NGF als auch sPGE2 4 Wochen nach der BoNT-A Applikation zeigen. In der sPGE2-Gruppe wurde zusätzlich die mittlere Wirkdauer von BoNT-A bestimmt, die im Mittel bei 9 Monaten lag. Deutlich konnte hier die Abhängigkeit der BoNT-A Wirkung zum prozentualen Abfall der sPGE2-Konzentrationen gezeigt werden: Patienten mit einem geringeren Abfall der Serumkonzentration 4 Wochen postoperativ (22%) hatten eine signifikant kürzere Wirkdauer als Patienten, deren sPGE2-Spiegel postoperativ prozentual deutlicher sanken (57,4%). 6 Patienten blieben über die erste postoperative Kontrolle hinaus in unserer Behandlung. Alle berichteten bei nachlassender BoNT-A-Wirkung eine deutliche Zunahme von Harndrang und Miktionsfrequenz. Die nachlassende BoNT-A Wirkung konnte anhand der wiederanstiegenden Serumkonzentrationen von PGE2 bestätigt werden. Nach einer zweiten Therapiesitzung fielen die Serumwerte 4 Wochen postoperativ erneut ab.

Im Folgenden werden die möglichen Wirkungen durch BoNT-A anhand der verschiedenen Transmitter diskutiert.

5.9 BoNT-A als Therapeutikum

Während der Miktion (=Detrusorkontraktion) sind in der Blase parasympathische Nerven aktiv. Diese besitzen - wie unter Punkt 1.2.1 bereits dargestellt - die höchste Expression von SV-2 (synaptic vesicle 2) und somit die höchste BoNT-A Aufnahme. Sympathische Fasern, die während der Füllungsphase aktiv sind, exprimieren weniger SV-2 und nehmen somit weniger BoNT auf (Kanai et al., 2011). Bisher wurde lediglich eine Wirkung auf efferente Nerven in der Blase vermutet. In Versuchen bei Mäusen mit Rückenmarksverletzungen, bei denen zirkumferent die Hälfte der Blase mit BoNT behandelt wurde, konnte jedoch eine Wirkung auf afferente und efferente Nervenfasern beobachtet werden.

Auffällig war eine Diffusion von BoNT-A über die Injektionsgrenze hinaus zur Mukosaoberfläche (Kanai et al., 2011). Kanai vermutet eine durch pathologische Veränderungen der Blase gesteigerte afferente Nervenaktivität, höhere SV-2 Expression und somit gesteigerte BoNT-A- Aufnahme in die terminalen Nervenenden.

3 Wirkansätze von BoNT-A werden in der Studie diskutiert:

1. eine über efferente Nerven durch BoNT-A modulierte Transmitterfreisetzung aus prä- und postsynaptischen ganglionären Fasern, so dass in der Blase eine Inhibition der Acetylcholinfreisetzung aus efferenten Nerven die Detrusoraktivität während der Miktion reduziert. Urodynamisch kann sowohl die reduzierte Detrusorkontraktion sowie die Zunahme an interkontraktilen Intervallen aufgezeigt werden.
2. durch inhibierte Neurotransmitterfreisetzung afferenter Neurone wird die Sensibilisierung sensorischer Fasern und die Nervenaktivität reduziert
3. im Urothel wird durch physikalische Reize wie Detrusordehnung vermehrt ATP ausgeschüttet. Liegt eine vermehrte ATP-Ausschüttung durch eine pathologisch veränderte Blase vor, kann BoNT-A zur Sensibilisierung afferenter Nervenfasern

über P2X2 und P2X2/3-Rezeptoren führen. Da ATP vesikulär freigesetzt wird, vermutet Kanai eine Inhibition der vesikulären ATP-Sekretion durch BoNT-A.

Wie bereits in der Einleitung beschrieben wird nach BoNT-A-Injektion die vesikuläre Ausschüttung von ACh inhibiert, wodurch es zu einer schlaffen Lähmung am Muskel kommt. ACh wird zudem durch ein nicht-neuronales cholinerges System urothelial freigesetzt (Lips et al., 2007). Da ACh über muskarinerge Rezeptoren die K⁺-Leitfähigkeit sowie den Ca⁺⁺-Einstrom der Zelle verändert ist hier als Folge eine geminderte ATP- und NO-Freisetzung suburothelial vorstellbar, welche wiederum zu Modulationen in der NGF- und PGE2-Sekretion führt. Die geminderte NGF-Freisetzung wäre über C- und A δ - Fasern für ein gemindertes Schmerzempfinden im Blasenbereich verantwortlich. Eine ähnliche Wirkung könnte PGE2 vermitteln. Insbesondere dem muskarinergen M2-Rezeptor wird eine regulierende Wirkung bezüglich der PGE2-Sekretion zugesprochen (Nile & Gillespie, 2012).

Da Su et al. in einer Studie an weiblichen Sprague-Dawley-Ratten mit Verletzungen des Spinalkanals zeigen konnten, dass die PGE2 vermittelte Nozizeption spinal und der Harndrang supraspinal über den EP-3 Rezeptor vermittelt werden (Su et al., 2008)

ist nach BoNT-A-Therapie ebenfalls eine geminderte Nozizeption durch geminderte PGE2-Sekretion denkbar.

Dies lässt auch die Vermutung zu, dass die NGF- und PGE2-Synthese durch BoNT-A eine geminderte vesikuläre ATP-Ausschüttung und somit eine Reduktion der P2X2 und P2X2/3-Rezeptorexpression bewirkt (Birder & Andersson, 2013).

Somit würde eine Sensibilisierung afferenter Nervenfasern gemindert werden, worauf Punkt 2. der Studie anspielt. Kausal würde weniger NGF und PGE2 von afferenten Nerven produziert, was wiederum eine Reduktion der Sensibilisierung und Detrusorüberaktivität zur Folge hat. Eine geringere NGF-Ausschüttung würde die Mastzellproduktion reduzieren, fokale Mastzellinfiltrate in der Blase wären rückläufig. Da Mastzellen ebenfalls eine PGE2-Sekretion induzieren, wäre auch hier durch den Rückgang der Mastzellinfiltrate eine geringere PGE2-Ausschüttung denkbar.

Ebenfalls könnte durch die BoNT-A Wirkung und deren kausal geminderte NGF-, ATP- und PGE2-Produktion die Expression von TRPV1-Rezeptoren gemindert werden. NGF-induziert werden bei chronischer Zystitis mehr TRPV1-Rezeptoren exprimiert (Nagy, Santha, Jancso, & Urban, 2004). Bei normaler Blasenfunktion lässt das eine Rolle von TRPV1 in der Blasenspeicherfunktion (Sensibilität) vermuten. Dies hätte eine gesteigerte Blasenkapazität zur Folge (Birder et al., 2002; Daly, Rong, Chess-Williams, Chapple, & Grundy, 2007).

Das Ziel unserer Studie war es, messbare Marker zur Verbesserung der Diagnostik und ggf. auch Therapie der OAB für den klinischen Alltag zu finden. Nach den bisherigen Erkenntnissen lassen sich NGF und PGE2 spezifisch im Urin bestimmen, gerade für NGF ist die Messbarkeit aber schwierig und ist bis zum jetzigen Zeitpunkt nur einer Arbeitsgruppe gelungen. PGE2 spiegelt sich zwar gut bei erkrankten, jedoch bisher therapieunfähigen Patienten im Urin wieder, allerdings konnte bisher keine signifikante Reduktion des Proteins im Urin nach Therapie gezeigt werden. Wie in

der Einleitung schon besprochen ist PGE₂ ein ubiquitärer Mediator, der jedoch am jeweiligen Syntheseort wirkt und bereits nach wenigen Minuten abgebaut ist. Bei unseren Patienten lag anamnestisch und klinisch keine weitere, offensichtliche Erkrankung vor, so dass sich die Frage stellt, warum sich 4 Wochen posttherapeutisch zusätzlich zur verbesserten Lebensqualität signifikant geminderte Werte eines normalerweise lokal synthetisierten und eliminierten Proteins nachweisen lassen. Die gleiche Frage stellt sich für NGF, welches ebenfalls im allgemeinen Entzündungsgeschehen erhöht nachgewiesen werden kann. Um diese Fragen beantworten zu können, ist eine tiefere Sicht in immunregulierende Prozesse notwendig.

Oberflächlich betrachtet sind beide Proteine im menschlichen Körper im allgemeinen Entzündungsgeschehen in allen Geweben beteiligt. Beiden Proteinen ist eine Beteiligung in vielerlei allergischen Reaktionen nachgewiesen, z.B. bei chronisch allergischem Asthma (Godard, Chantreuil, Clauzel, Crastes de Paulet, & Michel, 1981; Virchow et al., 1998).

Bei der OAB finden sich NGF-produzierende afferente Nervenfasern in direktem Kontakt mit Mastzellen. Diese bilden NGF-induziert fokale Mastzellinfiltrate in der Blase. Das von den Mastzellen produzierte Histamin führt zur chemotaktischen Migration anderer Immunzellen, die wiederum NGF produzieren (Aloe, 2001; Sawada, Itakura, Tanaka, Furusaka, & Matsuda, 2000). Eine Erklärung für im peripheren Blut messbares NGF bei OAB-Patienten kann eventuell eine Studie an Patienten mit kutaner und systemischer Mastozytose geben. Die Autoren untersuchten den Ursprung von erhöhten Serum-NGF-Werten sowie erhöhtem NGF in kutanen Gewebeproben. Zusätzlich wurde als Mastozytosemarker Tryptase bestimmt. Die NGF-Spiegel im Blut korrelierten mit den gemessenen Tryptase-Spiegeln, auch bei gesunden Kontrollen. Zusätzlich wurde ein vermehrtes Vorkommen von TrkA-(=spezifischer Rezeptor für NGF) positiven Zellen in Hautpräparaten gesunder als auch erkrankter Patienten gesehen. Die TrkA-exprimierenden Zellen konnten durch immunhistochemische Untersuchungen als Mastzellen identifiziert werden. Um das Migrationsverhalten von Mastzellen, über das bisher nur wenig verstanden ist, weiter zu entschlüsseln untersuchten die Autoren *in vitro* Mastzellvorläuferzellen.

Hier fiel bereits bei Kontrollzellen ein gesteigertes Migrationsverhalten von Mastzellvorläuferzellen aus dem Blut entlang eines NGF-Gradienten ins Gewebe auf, was sich bei den Vorläuferzellen der Mastozytosepatienten verstärkt bestätigte. Die Autoren vermuten die NTs selbst als eine Ursache der gesteigerten Mastzellinfiltrate bei Mastozytose. Da Mastzellen selbst eine NT-Quelle mit funktionsfähigen Rezeptoren darstellen ist über einen autokrinen Rückkopplungsmechanismus sogar eine Effektsteigerung denkbar.

Die Autoren vermuten diesen Mechanismus der Mastzellmigration anhand eines NGF-Gradienten bei allen Mastzell-gesteuerten Erkrankungen. Als Quelle der peripher messbar gesteigerten NGF-Serumwerte bei erkrankten Patienten vermuten die Autoren also die Mastzellen selbst (Peng et al., 2013).

Über PG war bisher lediglich klar, dass sie eine Vasodilatation und einen gesteigerten lokalen Bluteinstrom im Entzündungsgeschehen mit der Folge einer lokalen Überwärmung und Rötung auslösen. Der eigentliche Mechanismus, der zu dieser Vasodilatation führt, war jedoch bisher unklar. Morimoto et al. wiesen in einer Studie über inflammatorische Hauterkrankungen in einem Mausmodell eine direkte Wirkung von PGE₂ selbst über den EP₃-Rezeptor Mastzelldegeneration triggert und zur Zytokinausschüttung führt, was zur vaskulären Hyperpermeabilität und Leukozytenrekrutierung führte (Morimoto et al., 2014). Die Autoren postulieren eine PGE₂-getriggerte, gesteigerte Chemotaxis und Bindungsaktivität von Mastzellen im akut entzündlichen Gewebe. Die PGE₂-EP₃-Signalkaskade könnte laut den Autoren als Sensor der Mastzellen gegen Veränderungen in ihrem Mikroumfeld dienen.

Die Ergebnisse der beiden o.g. Studien stützen die These einer chronischen Entzündung als eine der Ursachen der OAB. Die bei der OAB nachgewiesenen und NGF-getriggerten Mastzellinfiltrate in der Blase bilden einen lokalen Entzündungsherd, der zur Hyperpermeabilität führt. Durch die gesteigerte Gewebedurchlässigkeit kommt es zur Ausschüttung von in der Blase gebildetem NGF ins periphere Blut, das wiederum zu einer Mastzellmigration führen könnte. Gleichzeitig könnte durch das in der Blase vermehrt gebildete PGE₂ über die PGE₂-EP₃-Signalkaskade eine gesteigerte Mastzellmigration in die Blase eingeleitet werden. Beide Proteine könnten so verstärkt den o.g. NGF-

Rückkopplungsmechanismus zur Effektverstärkung initiieren.

Durch eine Therapie mit BoNT-A würde die bereits diskutierte Sekretion von Neurotransmittern inhibiert bzw. deutlich reduziert, dies würde wiederum zu einer Unterbrechung des o.g. Entzündungsgeschehens und somit der Mastzellmigration führen. Peripher ließe sich also ein signifikanter Rückgang der gemessenen Proteine nachweisen.

Eine mögliche Erklärung für im Serum nachweisbare erhöhte NGF- und PGE2-Konzentrationen könnten also Mastzellen sein. Über eine Tryptasebestimmung im Blut könnte diese Hypothese gesichert werden, allerdings sind hierzu größere Patientenkollektive und ebenfalls immunhistochemische Nachweise zur Identifizierung der Mastzellen notwendig.

6 Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden bei insgesamt 82 Patienten mit überaktiver Blase (OAB) prospektiv die Serumwerte Nerve Growth Factor (NGF) und Prostaglandin E2 (PGE2) vor und nach Therapie mit Botulinumtoxin A (BoNT-A) untersucht. Die OAB ist in ihren Ursachen noch nicht vollständig verstanden, aktuell werden Entzündungsvorgänge als ein Auslöser diskutiert. Verschiedene Transmitter spielen sowohl bei der physiologischen Blasenentleerung als auch bei Blasenentleerungsstörungen eine wichtige Rolle. Die genauen Vorgänge während der Miktion sind jedoch nicht vollständig bekannt. NGF und PGE2 sind bei der OAB als deutlich erhöhte Marker nachgewiesen worden. Messungen im Urin konnten Veränderungen vor und nach anticholinergischer Medikation und BoNT-A Applikation zeigen. Bisher liegen jedoch keine Datensätze zu Messungen im Serum vor.

Wir untersuchten Serumkonzentrationen beider Proteine bei Patienten mit OAB vor und nach BoNT-A Therapie. Zum Vergleich wurden 32 gesunde Patienten herangezogen. Die Messungen erfolgten nach Anamnese, Urinstatus, Miktionstagebuch und Urodynamik. Einschlusskriterien war die urodynamisch nachweisbare nicht neurologische OAB mit Detrusorüberaktivität oder die kleinkapazitive, übersensible Blase ohne Detrusorüberaktivität. Alle Patienten waren zuvor frustriert mit Anticholinergika behandelt worden.

Die Lebensqualität wurde anhand standardisierter Fragebögen (King's Health Questionnaire und International Consultation on Incontinence Questionnaire - short form) 4 Wochen prä- und 4 Wochen postoperativ erfragt. Serumproben wurden ebenfalls 4 Wochen prä- und 4 Wochen postoperativ abgenommen. Für die Serum-Messungen verwendeten wir kommerziell erwerbliche ELISA-Kits. Für unabhängige Stichproben wurde der nicht-parametrische Mann-Whitney-U-Test, für verbundene Stichproben der Student's t-Test durchgeführt und ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt.

Die Serumproben erkrankter Pat. unterschieden sich in beiden Proteingruppen signifikant von den Kontrollen.

26 Pat. der NGF-Gruppe, davon 18 mit Inkontinenz (OAB wet) wiesen präoperativ deutlich erhöhte NGF-Serumwerte (sNGF 58,8 pg/ml, $p < 0,005$) auf. sNGF konnte bei

inkontinenten Pat. deutlich höher gemessen werden als bei kontinenten (85 pg/ml (\pm 250) vs. 0,73 pg/ml (\pm 2,1), $p < 0,005$). 4 Wochen postoperativ zeigten alle Pat. eine signifikante Wertreduktion (2,4 pg/ml, $p < 0,005$) und gaben signifikante Symptomreduktion (geminderter Vorlagenverbrauch, reduzierte Miktionsfrequenz, geringerer Harndrang, bessere Lebensqualität) an. Für Pat. > 60 Jahre ließen sich höhere sNGF-Spiegel nachweisen als bei jüngeren Pat. (8,9 pg/ml (\pm 11,2) vs. 77,2 pg/ml (\pm 244), $p < 0,05$). 2 Pat. der NGF-Gruppe sprachen subjektiv nicht auf die BoNT-A Therapie an, was sich in nur geringem oder nicht vorhandenem sNGF-Abfall widerspiegelte.

Gleichwertige Ergebnisse konnten in der PGE2-Gruppe gezeigt werden. Von initial 56 Pat. mit idiopathischer OAB im Vergleich zur Kontrollgruppe wiesen prätherapeutisch deutlich erhöhte sPGE2-Werte (2749,5 pg/ml, $p < 0,005$) auf. Für die Subgruppen OAB wet/dry war sPGE2 signifikant erhöht nachweisbar (3241 pg/ml versus 1734 pg/ml, $p < 0,01$). Bei 30 (53,6%) Pat. ließ sich 4 Wochen postinterventionell sPGE2 bestimmen. Hier zeigte sich ebenfalls eine signifikante Wertreduktion (2995 pg/ml vs. 1486 pg/ml, $p < 0,005$). BoNT-A hatte in unseren Messungen eine mittlere Wirkdauer von 9 Monaten, es wurden deutlich weniger Vorlagen gebraucht ($p < 0,05$). Insgesamt 3 Pat. der sPGE2-Gruppe zeigten keine oder nur geringe Symptombesserung nach BoNT-A. Nachweislich wiesen 2 der Pat. (66,6%) anstatt einer Wertreduktion sogar einen Anstieg von sPGE2 bis auf 51% des Ausgangswertes auf, der 3. Pat. zeigte einen nur geringen sPGE2-Abfall (-27%). Insgesamt 6 Pat. gaben nach dieser Zeit eine erneute Symptomverstärkung an. Dies spiegelte sich in erneut angestiegenen sPGE2-Werten wieder, die 4 Wochen nach einer zweiten BoNT-A Sitzung signifikant abfielen. sPGE2 korrelierte nicht mit dem Lebensalter.

Unsere Ergebnisse zeigen eine eindeutige Verbindung zwischen den im Serum erhöht gemessenen NGF- und PGE2-Werten und OAB. Unsere Arbeitsgruppe präsentiert erstmals relevante Datensätze zum Einfluss von BoNT-A auf die NGF- und PGE2- Sekretion bei Pat. mit OAB. Die erhobenen Messwerte korrelieren mit der Schwere der Erkrankung, was sich in höheren Werten bei Pat. mit OAB wet im Vergleich zu Pat. mit OAB dry widerspiegelt. Zusätzlich konnten wir einen Zusammenhang zwischen einem Therapieerfolg nach BoNT-A und fallenden

Serumleveln beider Proteine nachweisen. Limitierend für diese Studie ist die relativ kleine Kohortenzahl von 82 Pat. Unsere vielversprechenden Ergebnisse müssten an größeren Patientenkollektiven bestätigt werden. Insgesamt stellen NGF und PGE2 gut messbare Entzündungsmarker im Serum dar, die im klinischen Alltag als Indikatoren für Diagnostik und eine gute Therapieführung verwendet werden können.

7 Summary

This prospectively designed study aims to analyze neurotransmitters nerve growth factor (NGF) and prostaglandin E2 (PGE2) serum blood levels in patients with overactive bladder (OAB) before and after botulinum toxin A (BoNT-A) therapy. Cause and development of OAB are still not fully understood. Currently, chronic inflammatory processes are discussed as a trigger. Different transmitters play an important role both during physiological micturition and bladder disorders. However the exact regulations during micturition are still obscure. Recent studies showed significantly increased urinary NGF and PGE2 levels in OAB patients. Moreover, a significant change in protein levels before and after anticholinergic therapy and BoNT-A treatment could be shown in several studies.

Up to now relevant data about serum levels is lacking.

We measured serum blood levels of both proteins in patients with OAB before and after BoNT-A therapy. 32 healthy patients served as control group. Evaluation included patient history, urine analysis, a voiding diary and urodynamic studies. Inclusion criteria were urodynamic proven non-neurogenic overactive bladder with detrusor hyperactivity or hypersensitive low capacity bladder without detrusor hyperactivity. Patients were excluded if they did not meet the criteria. All patients were non-responder to medical treatment.

Before and 4 weeks after treatment therapeutic success was assessed on the basis of standardized questionnaires ICIQ-SF and KHQ. Before and 4 weeks after BoNT-A treatment, blood samples were collected. Serum blood levels were measured by a commercialized enzyme linked immunosorbent assay. The statistical data analysis was performed using the non-parametric Mann–Whitney U test and paired t-test to compare the different groups and the individual changes.

Serum blood levels of the two protein groups differed significantly from controls.

Significantly higher sNGF levels were detected in 26 patients with OAB (sNGF 58,8 pg/ml, $p < 0,005$), hereof 18 with OAB wet. Furthermore sNGF levels were increased in patients with OAB wet compared to OAB dry (85 pg/ml (± 250) vs. 0,73 pg/ml (\pm

2,1). sNGF levels decreased significantly after BoNT-A treatment (2,4 pg/ml, $p < 0,005$). Incontinence pads were needed significantly less frequent. Patients >60 years showed significantly higher sNGF levels (77,2 pg/ml vs. 8,9 pg/ml, $p < 0,05$) compared to younger OAB patients. 2 patients had no significant effect after BoNT-A treatment. They showed no or only slightly decreased sNGF-levels.

We could demonstrate equivalent results for sPGE2: significantly higher sPGE2 levels were detected in 56 patients with OAB compared to controls (2750 pg/ml vs. 1674 pg/ml, $p < 0,005$). Furthermore sPGE2 levels were increased in patients with OAB wet compared to OAB dry (3241 pg/ml versus 1734 pg/ml, $p < 0,01$). In 30 patients (53,6%) sPGE2 levels decreased significantly 4 weeks after BoNT-A treatment compared to baseline (2995 pg/ml vs. 1486 pg/ml, $p < 0,005$). Patients reported an average drug effect of 9 month; incontinence pads were needed significantly less frequent ($p < 0,05$). 3 patients reported no postoperative effect. sPGE2 increased in two patients (66,6%) compared to initial levels (51%), a single patient showed a remotely decreased sPGE2 (-27%). Six patients were treated repeatedly with BoNT-A after showing an sPGE2 re-rise. 4 weeks after BoNT-A treatment sPGE2 levels decreased again. sPGE2 did not correlate with age.

Our results clearly demonstrate the relationship between sNGF, sPGE2 and OAB reflected in significantly elevated serum levels of both proteins in patients suffering from OAB.

For the first time we present data that sNGF and sPGE2 development is influenced by intravesical BoNT-A therapy in OAB. Moreover, our data detect a correlation of both protein blood levels with the severity of OAB reflected by significant higher levels in wet compared to dry OAB. Furthermore, we detected a correlation between the success of therapy as well as the degree and duration of decreased protein levels.

A limitation of this prospective single-center examination was the relatively small patient cohort of 82 OAB-patients. These promising results have to be confirmed in further investigations with a larger population.

This possible potential to differentiate between various OAB stages reveals sNGF and PGE2 as promising for future use as markers and additional helpful tools for therapeutic decisions in OAB.

8 Literaturverzeichnis

- Aloe, L. (2001). Nerve growth factor and neuroimmune responses: Basic and clinical observations. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 109(4), 354-356. doi:10.1076/apab.109.4.354.4235
- Andersson, K. E. (2002). Bladder activation: Afferent mechanisms. *Urology*, 59(5 Suppl 1), 43-50.
- Andersson, M. C., Tobin, G., & Giglio, D. (2008). Cholinergic nitric oxide release from the urinary bladder mucosa in cyclophosphamide-induced cystitis of the anaesthetized rat. *British Journal of Pharmacology*, 153(7), 1438-1444. doi:10.1038/bjp.2008.6 [doi]
- Apodaca, G. (2004). The uroepithelium: Not just a passive barrier. *Traffic (Copenhagen, Denmark)*, 5(3), 117-128. doi:10.1046/j.1600-0854.2003.00156.x
- Apostolidis, A., Papat, R., Yiangou, Y., Cockayne, D., Ford, A. P., Davis, J. B., . . . Anand, P. (2005). Decreased sensory receptors P2X3 and TRPV1 in suburothelial nerve fibers following intradetrusor injections of botulinum toxin for human detrusor overactivity. *The Journal of Urology*, 174(3), 977-82; discussion 982-3. doi:10.1097/01.ju.0000169481.42259.54
- Avery, K., Donovan, J., Peters, T. J., Shaw, C., Gotoh, M., & Abrams, P. (2004). ICIQ: A brief and robust measure for evaluating the symptoms and impact of urinary incontinence. *Neurourology and Urodynamics*, 23(4), 322-330. doi:10.1002/nau.20041 [doi]
- Balestreire, E. M., & Apodaca, G. (2007). Apical epidermal growth factor receptor signaling: Regulation of stretch-dependent exocytosis in bladder umbrella cells. *Molecular Biology of the Cell*, 18(4), 1312-1323. doi:10.1091/mbc.E06-09-0842
- Bergstrom, S., & Samuelsson, B. (1962). Isolation of prostaglandin E1 from human seminal plasma. prostaglandins and related factors. 11. *The Journal of Biological Chemistry*, 237, 3005-3006.

- Birder, L., & Andersson, K. E. (2013). Urothelial signaling. *Physiological Reviews*, 93(2), 653-680.
doi:10.1152/physrev.00030.2012 [doi]
- Birder, L. A., Apodaca, G., De Groat, W. C., & Kanai, A. J. (1998). Adrenergic- and capsaicin-evoked nitric oxide release from urothelium and afferent nerves in urinary bladder. *The American Journal of Physiology*, 275(2 Pt 2), F226-9.
- Birder, L. A., Kanai, A. J., Cruz, F., Moore, K., & Fry, C. H. (2010). Is the urothelium intelligent? *Neurourology and Urodynamics*, 29(4), 598-602. doi:10.1002/nau.20914; 10.1002/nau.20914
- Birder, L. A., Kanai, A. J., de Groat, W. C., Kiss, S., Nealen, M. L., Burke, N. E., . . . Caterina, M. J. (2001). Vanilloid receptor expression suggests a sensory role for urinary bladder epithelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(23), 13396-13401. doi:10.1073/pnas.231243698
- Birder, L. A., Nakamura, Y., Kiss, S., Nealen, M. L., Barrick, S., Kanai, A. J., . . . Caterina, M. J. (2002). Altered urinary bladder function in mice lacking the vanilloid receptor TRPV1. *Nature Neuroscience*, 5(9), 856-860. doi:10.1038/nn902
- Birder, L. A., Nealen, M. L., Kiss, S., de Groat, W. C., Caterina, M. J., Wang, E., . . . Kanai, A. J. (2002). Beta-adrenoceptor agonists stimulate endothelial nitric oxide synthase in rat urinary bladder urothelial cells. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(18), 8063-8070.
- Birder, L. A., Ruggieri, M., Takeda, M., van Koevinge, G., Veltkamp, S., Korstanje, C., . . . Fry, C. H. (2012). How does the urothelium affect bladder function in health and disease? ICI-RS 2011. *Neurourology and Urodynamics*, 31(3), 293-299. doi:10.1002/nau.22195; 10.1002/nau.22195

- Bschleipfer, T., Schukowski, K., Weidner, W., Grando, S. A., Schwantes, U., Kummer, W., & Lips, K. S. (2007). Expression and distribution of cholinergic receptors in the human urothelium. *Life Sciences*, 80(24-25), 2303-2307. doi:S0024-3205(07)00121-X [pii]
- Bschleipfer, T., Wagenlehner, F. M., Ludecke, G., Pilatz, A., & Weidner, W. (2013). Overactive bladder in the elderly. [Blaseneraktivität im Alter] *Der Urologe.Ausg.A*, 52(6), 800-804. doi:10.1007/s00120-013-3153-1 [doi]
- Caterina, M. J., Schumacher, M. A., Tominaga, M., Rosen, T. A., Levine, J. D., & Julius, D. (1997). The capsaicin receptor: A heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, 389(6653), 816-824. doi:10.1038/39807 [doi]
- Chao, M. V. (2003). Neurotrophins and their receptors: A convergence point for many signalling pathways. *Nature Reviews.Neuroscience*, 4(4), 299-309. doi:10.1038/nrn1078
- Chapple, C., Sievert, K. D., Macdiarmid, S., Khullar, V., Radziszewski, P., Nardo, C., . . . Haag-Molkenteller, C. (2013). OnabotulinumtoxinA 100 U significantly improves all idiopathic overactive bladder symptoms and quality of life in patients with overactive bladder and urinary incontinence: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *European Urology*, doi:10.1016/j.eururo.2013.04.001; 10.1016/j.eururo.2013.04.001
- Charrua, A., Cruz, C. D., Cruz, F., & Avelino, A. (2007). Transient receptor potential vanilloid subfamily 1 is essential for the generation of noxious bladder input and bladder overactivity in cystitis. *The Journal of Urology*, 177(4), 1537-1541. doi:10.1016/j.juro.2006.11.046
- Cho, K. J., Kim, H. S., Koh, J. S., & Kim, J. C. (2013). Changes in urinary nerve growth factor and prostaglandin E(2) in women with overactive bladder after anticholinergics. *International Urogynecology Journal*, 24(2), 325-330. doi:10.1007/s00192-012-1854-4; 10.1007/s00192-012-1854-4

- Chuang, H. H., Prescott, E. D., Kong, H., Shields, S., Jordt, S. E., Basbaum, A. I., . . . Julius, D. (2001). Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns(4,5)P₂-mediated inhibition. *Nature*, *411*(6840), 957-962. doi:10.1038/35082088
- Cockayne, D. A., Hamilton, S. G., Zhu, Q. M., Dunn, P. M., Zhong, Y., Novakovic, S., . . . Ford, A. P. (2000). Urinary bladder hyporeflexia and reduced pain-related behaviour in P2X₃-deficient mice. *Nature*, *407*(6807), 1011-1015. doi:10.1038/35039519 [doi]
- Coleman, R. A., Smith, W. L., & Narumiya, S. (1994). International union of pharmacology classification of prostanoid receptors: Properties, distribution, and structure of the receptors and their subtypes. *Pharmacological Reviews*, *46*(2), 205-229.
- Daly, D., Rong, W., Chess-Williams, R., Chapple, C., & Grundy, D. (2007). Bladder afferent sensitivity in wild-type and TRPV1 knockout mice. *The Journal of Physiology*, *583*(Pt 2), 663-674. doi:10.1113/jphysiol.2007.139147
- DGGG. (2010). S2k-leitlinie der deutschen gesellschaft für gynäkologie und geburtshilfe. [Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), Arbeitsgemeinschaft Urogynäkologie und Plastische Beckenbodenrekonstruktion (AGUB), Deutsche Gesellschaft für Urologie (DGU), Arbeitsgemeinschaft Urogynäkologie und rekonstruktive Beckenbodenchirurgie (AUB, Österreich), Österreichische Gesellschaft für Urologie, Arbeitsgemeinschaft Urogynäkologie (AUG, Schweiz);] *AWMF online*
- Dong, M., Yeh, F., Tepp, W. H., Dean, C., Johnson, E. A., Janz, R., & Chapman, E. R. (2006). SV2 is the protein receptor for botulinum neurotoxin A. *Science (New York, N.Y.)*, *312*(5773), 592-596. doi:10.1126/science.1123654
- Drake, M. J., Fry, C. H., & Eyden, B. (2006). Structural characterization of myofibroblasts in the bladder. *BJU International*, *97*(1), 29-32. doi:10.1111/j.1464-410X.2006.05818.x

- Ferguson, D. R., Kennedy, I., & Burton, T. J. (1997). ATP is released from rabbit urinary bladder epithelial cells by hydrostatic pressure changes--a possible sensory mechanism? *The Journal of Physiology*, 505 (Pt 2)(Pt 2), 503-511
- Foran, P. G., Mohammed, N., Lisk, G. O., Nagwaney, S., Lawrence, G. W., Johnson, E., . . . Dolly, J. O. (2003). Evaluation of the therapeutic usefulness of botulinum neurotoxin B, C1, E, and F compared with the long lasting type A. basis for distinct durations of inhibition of exocytosis in central neurons. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(2), 1363-1371.
doi:10.1074/jbc.M209821200
- Frohme, C., Varga, Z., Olbert, P., Schrader, A. J., Hofmann, R., & Hegele, A. (2010). Effects of botulinum toxin type A in the single and repeated treatment of overactive bladder. A prospective analysis. [Wirkung von Botulinumtoxin A in der ein- und mehrmaligen Behandlung der uberaktiven Blase. Eine prospektive Analyse] *Der Urologe.Ausg.A*, 49(5), 639-644.
doi:10.1007/s00120-009-2208-9; 10.1007/s00120-009-2208-9
- Gee, J., Lee, I. L., Grossman, H. B., & Sabichi, A. L. (2008). Forced COX-2 expression induces PGE(2) and invasion in immortalized urothelial cells. *Urologic Oncology*, 26(6), 641-645.
doi:10.1016/j.urolonc.2007.05.015; 10.1016/j.urolonc.2007.05.015
- Giannantoni, A., Conte, A., Farfariello, V., Proietti, S., Vianello, A., Nardicchi, V., . . . Amantini, C. (2013). Onabotulinumtoxin-A intradetrusorial injections modulate bladder expression of NGF, TrkA, p75 and TRPV1 in patients with detrusor overactivity. *Pharmacological Research : The Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 68(1), 118-124.
doi:10.1016/j.phrs.2012.11.009; 10.1016/j.phrs.2012.11.009
- Giannantoni, A., Di Stasi, S. M., Nardicchi, V., Zucchi, A., Macchioni, L., Bini, V., . . . Porena, M. (2006). Botulinum-A toxin injections into the detrusor muscle decrease nerve growth factor bladder tissue levels in patients with neurogenic detrusor overactivity. *The Journal of Urology*, 175(6), 2341-2344. doi:10.1016/S0022-5347(06)00258-8

- Godard, P., Chantreuil, J., Clauzel, A. M., Crastes de Paulet, A., & Michel, F. B. (1981). Plasma concentrations of prostaglandins E2 and F2a in asthmatic patients. *Respiration; International Review of Thoracic Diseases*, 42(1), 43-51.
- Goldblatt, M. W. (1935). Properties of human seminal plasma. *The Journal of Physiology*, 84(2), 208-218.
- Haylen, B. T., de Ridder, D., Freeman, R. M., Swift, S. E., Berghmans, B., Lee, J., . . . International Continence Society. (2010). An international urogynecological association (IUGA)/international continence society (ICS) joint report on the terminology for female pelvic floor dysfunction. *Neurourology and Urodynamics*, 29(1), 4-20. doi:10.1002/nau.20798 [doi]
- Hegele, A., Knippschild, S., Frohme, C., Hanze, J., Olbert, P., & Hofmann, R. (2014). Changes in prostaglandin E2 in patients with idiopathic overactive bladder syndrome after botulinum toxin type A treatment: Is there a clinical benefit? *BMC Urology*, 14, 85-2490-14-85. doi:10.1186/1471-2490-14-85 [doi]
- Hu, P., Meyers, S., Liang, F. X., Deng, F. M., Kachar, B., Zeidel, M. L., & Sun, T. T. (2002). Role of membrane proteins in permeability barrier function: Uroplakin ablation elevates urothelial permeability. *American Journal of Physiology.Renal Physiology*, 283(6), F1200-7. doi:10.1152/ajprenal.00043.2002
- Huang, E. J., & Reichardt, L. F. (2001). Neurotrophins: Roles in neuronal development and function. *Annual Review of Neuroscience*, 24, 677-736. doi:10.1146/annurev.neuro.24.1.677
- Irwin, D. E., Milsom, I., Hunskar, S., Reilly, K., Kopp, Z., Herschorn, S., . . . Abrams, P. (2006). Population-based survey of urinary incontinence, overactive bladder, and other lower urinary tract symptoms in five countries: Results of the EPIC study. *European Urology*, 50(6), 1306-14; discussion 1314-5. doi:S0302-2838(06)01116-X [pii]

Jost, W. (1997). Neurologie des Beckenbodens. *Neurologie Des Beckenbodens*, (Chapman & Hall, London-Glasgow-Weinheim)

Kanai, A., Zabbarova, I., Ikeda, Y., Yoshimura, N., Birder, L., Hanna-Mitchell, A., & de Groat, W. (2011). Sophisticated models and methods for studying neurogenic bladder dysfunction. *Neurourology and Urodynamics*, 30(5), 658-667. doi:10.1002/nau.21120; 10.1002/nau.21120

Kanai, A., Zabbarova, I., Oefelein, M., Radziszewski, P., Ikeda, Y., & Andersson, K. E. (2012a). Mechanisms of action of botulinum neurotoxins, beta3-adrenergic receptor agonists, and PDE5 inhibitors in modulating detrusor function in overactive bladders: ICI-RS 2011. *Neurourology and Urodynamics*, 31(3), 300-308. doi:10.1002/nau.21246; 10.1002/nau.21246

Kanai, A., Zabbarova, I., Oefelein, M., Radziszewski, P., Ikeda, Y., & Andersson, K. E. (2012b). Mechanisms of action of botulinum neurotoxins, beta3-adrenergic receptor agonists, and PDE5 inhibitors in modulating detrusor function in overactive bladders: ICI-RS 2011. *Neurourology and Urodynamics*, 31(3), 300-308. doi:10.1002/nau.21246; 10.1002/nau.21246

Kelleher, C. J., Cardozo, L. D., Khullar, V., & Salvatore, S. (1997). A new questionnaire to assess the quality of life of urinary incontinent women. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 104(12), 1374-1379.

Kim, J. C., Park, E. Y., Hong, S. H., Seo, S. I., Park, Y. H., & Hwang, T. K. (2005). Changes of urinary nerve growth factor and prostaglandins in male patients with overactive bladder symptom. *International Journal of Urology : Official Journal of the Japanese Urological Association*, 12(10), 875-880. doi:10.1111/j.1442-2042.2005.01140.x

Klausner, A. P., Johnson, C. M., Stike, A. B., Speich, J. E., Sabarwal, V., Miner, A. S., . . . Ratz, P. H. (2011). Prostaglandin E(2)mediates spontaneous rhythmic contraction in rabbit detrusor muscle. *The Canadian Journal of Urology*, 18(2), 5608-5614.

- Klinger, M. B., & Vizzard, M. A. (2008). Role of p75NTR in female rat urinary bladder with cyclophosphamide-induced cystitis. *American Journal of Physiology.Renal Physiology*, 295(6), F1778-89. doi:10.1152/ajprenal.90501.2008; 10.1152/ajprenal.90501.2008
- Knight, G. E., Bodin, P., De Groat, W. C., & Burnstock, G. (2002). ATP is released from guinea pig ureter epithelium on distension. *American Journal of Physiology.Renal Physiology*, 282(2), F281-8. doi:10.1152/ajprenal.00293.2000 [doi]
- Kobayter, S., Young, J. S., & Brain, K. L. (2012). Prostaglandin E2 induces spontaneous rhythmic activity in mouse urinary bladder independently of efferent nerves. *British Journal of Pharmacology*, 165(2), 401-413. doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01543.x; 10.1111/j.1476-5381.2011.01543.x
- Kuo, H. C., Liu, H. T., & Chancellor, M. B. (2010). Can urinary nerve growth factor be a biomarker for overactive bladder? *Reviews in Urology*, 12(2-3), e69-77.
- Levi-Montalcini, R., Skaper, S. D., Dal Toso, R., Petrelli, L., & Leon, A. (1996). Nerve growth factor: From neurotrophin to neurokinine. *Trends in Neurosciences*, 19(11), 514-520.
- Lewis, S. A. (2000). Everything you wanted to know about the bladder epithelium but were afraid to ask. *American Journal of Physiology.Renal Physiology*, 278(6), F867-74.
- Lips, K. S., Wunsch, J., Zarghooni, S., Bschleipfer, T., Schukowski, K., Weidner, W., . . . Kummer, W. (2007). Acetylcholine and molecular components of its synthesis and release machinery in the urothelium. *European Urology*, 51(4), 1042-1053. doi:10.1016/j.eururo.2006.10.028
- Liu, H. T., Chancellor, M. B., & Kuo, H. C. (2009a). Decrease of urinary nerve growth factor levels after antimuscarinic therapy in patients with overactive bladder. *BJU International*, 103(12), 1668-1672. doi:10.1111/j.1464-410X.2009.08380.x; 10.1111/j.1464-410X.2009.08380.x

- Liu, H. T., Chancellor, M. B., & Kuo, H. C. (2009b). Urinary nerve growth factor levels are elevated in patients with detrusor overactivity and decreased in responders to detrusor botulinum toxin-A injection. *European Urology*, *56*(4), 700-706. doi:10.1016/j.eururo.2008.04.037;
10.1016/j.eururo.2008.04.037
- Liu, H. T., Chen, C. Y., & Kuo, H. C. (2011). Urinary nerve growth factor in women with overactive bladder syndrome. *BJU International*, *107*(5), 799-803. doi:10.1111/j.1464-410X.2010.09585.x;
10.1111/j.1464-410X.2010.09585.x
- Liu, H. T., Tyagi, P., Chancellor, M. B., & Kuo, H. C. (2009). Urinary nerve growth factor level is increased in patients with interstitial cystitis/bladder pain syndrome and decreased in responders to treatment. *BJU International*, *104*(10), 1476-1481. doi:10.1111/j.1464-410X.2009.08675.x;
10.1111/j.1464-410X.2009.08675.x
- Maggi, C. A., Giuliani, S., Conte, B., Furio, M., Santicioli, P., Meli, P., . . . Meli, A. (1988). Prostanoids modulate reflex micturition by acting through capsaicin-sensitive afferents. *European Journal of Pharmacology*, *145*(2), 105-112.
- Mahrhold, S., Rummel, A., Bigalke, H., Davletov, B., & Binz, T. (2006). The synaptic vesicle protein 2C mediates the uptake of botulinum neurotoxin A into phrenic nerves. *FEBS Letters*, *580*(8), 2011-2014. doi:10.1016/j.febslet.2006.02.074
- Manning, P. T., Russell, J. H., Simmons, B., & Johnson, E. M., Jr. (1985). Protection from guanethidine-induced neuronal destruction by nerve growth factor: Effect of NGF on immune function. *Brain Research*, *340*(1), 61-69. doi:0006-8993(85)90773-5 [pii]
- Masunaga, K., Yoshida, M., Inadome, A., Iwashita, H., Miyamae, K., & Ueda, S. (2006). Prostaglandin E2 release from isolated bladder strips in rats with spinal cord injury. *International Journal of Urology : Official Journal of the Japanese Urological Association*, *13*(3), 271-276. doi:10.1111/j.1442-2042.2006.01274.x

- McCafferty, G. P., Misajet, B. A., Laping, N. J., Edwards, R. M., & Thorneloe, K. S. (2008a). Enhanced bladder capacity and reduced prostaglandin E2-mediated bladder hyperactivity in EP3 receptor knockout mice. *American Journal of Physiology.Renal Physiology*, 295(2), F507-14. doi:10.1152/ajprenal.00054.2008; 10.1152/ajprenal.00054.200
- McCafferty, G. P., Misajet, B. A., Laping, N. J., Edwards, R. M., & Thorneloe, K. S. (2008b). Enhanced bladder capacity and reduced prostaglandin E2-mediated bladder hyperactivity in EP3 receptor knockout mice. *American Journal of Physiology.Renal Physiology*, 295(2), F507-14. doi:10.1152/ajprenal.00054.2008; 10.1152/ajprenal.00054.2008
- Milsom, I., Abrams, P., Cardozo, L., Roberts, R. G., Thuroff, J., & Wein, A. J. (2001). How widespread are the symptoms of an overactive bladder and how are they managed? A population-based prevalence study. *BJU International*, 87(9), 760-766.
- Morimoto, K., Shirata, N., Taketomi, Y., Tsuchiya, S., Segi-Nishida, E., Inazumi, T., . . . Sugimoto, Y. (2014). Prostaglandin E2-EP3 signaling induces inflammatory swelling by mast cell activation. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 192(3), 1130-1137. doi:10.4049/jimmunol.1300290 [doi]
- Munoz, A., Gangitano, D. A., Smith, C. P., Boone, T. B., & Somogyi, G. T. (2010). Removal of urothelium affects bladder contractility and release of ATP but not release of NO in rat urinary bladder. *BMC Urology*, 10, 10-2490-10-10. doi:10.1186/1471-2490-10-10; 10.1186/1471-2490-10-10
- Nagy, I., Santha, P., Jancso, G., & Urban, L. (2004). The role of the vanilloid (capsaicin) receptor (TRPV1) in physiology and pathology. *European Journal of Pharmacology*, 500(1-3), 351-369. doi:S0014-2999(04)00746-0 [pii]
- Narumiya, S., Sugimoto, Y., & Ushikubi, F. (1999). Prostanoid receptors: Structures, properties, and functions. *Physiological Reviews*, 79(4), 1193-1226.

- Nile, C. J., de Vente, J., & Gillespie, J. I. (2010). Stretch independent regulation of prostaglandin E(2) production within the isolated guinea-pig lamina propria. *BJU International*, *105*(4), 540-548. doi:10.1111/j.1464-410X.2009.08705.x; 10.1111/j.1464-410X.2009.08705.x
- Nile, C. J., & Gillespie, J. I. (2012). Interactions between cholinergic and prostaglandin signaling elements in the urothelium: Role for muscarinic type 2 receptors. *Urology*, *79*(1), 240.e17-240.e23. doi:10.1016/j.urology.2011.08.029; 10.1016/j.urology.2011.08.029
- Ost, D., Roskams, T., Van Der Aa, F., & De Ridder, D. (2002). Topography of the vanilloid receptor in the human bladder: More than just the nerve fibers. *The Journal of Urology*, *168*(1), 293-297.
- Papanicolaou, S., Hunskar, S., Lose, G., & Sykes, D. (2005). Assessment of bothersomeness and impact on quality of life of urinary incontinence in women in france, germany, spain and the UK. *BJU International*, *96*(6), 831-838. doi:BJU5722 [pii]
- Parsons, C. L., Boychuk, D., Jones, S., Hurst, R., & Callahan, H. (1990). Bladder surface glycosaminoglycans: An epithelial permeability barrier. *The Journal of Urology*, *143*(1), 139-142.
- Peng, W. M., Maintz, L., Allam, J. P., Raap, U., Gutgemann, I., Kirfel, J., . . . Novak, N. (2013). Increased circulating levels of neurotrophins and elevated expression of their high-affinity receptors on skin and gut mast cells in mastocytosis. *Blood*, *122*(10), 1779-1788. doi:10.1182/blood-2012-12-469882; 10.1182/blood-2012-12-469882
- Pinna, C., Zanardo, R., & Puglisi, L. (2000). Prostaglandin-release impairment in the bladder epithelium of streptozotocin-induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, *388*(3), 267-273.
- Rahnama'i, M. S., Biallostowski, B. T., de Wachter, S. G., Van Kerrebroeck, P. E., & van Koeveeringe, G. A. (2012). The distribution of the prostaglandin E receptor type 2 (EP2) in the detrusor of the

guinea pig. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 99(3-4), 107-115.

doi:10.1016/j.prostaglandins.2012.08.005; 10.1016/j.prostaglandins.2012.08.005

Ravindra, P., Jackson, B. L., & Parkinson, R. J. (2013). Botulinum toxin type A for the treatment of non-neurogenic overactive bladder: Does using onabotulinumtoxinA (botox((R))) or abobotulinumtoxinA (dysport((R))) make a difference? *BJU International*, 112(1), 94-99.

doi:10.1111/bju.12028; 10.1111/bju.12028

Ruan, Y. C., Zhou, W., & Chan, H. C. (2011). Regulation of smooth muscle contraction by the epithelium: Role of prostaglandins. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 26(3), 156-170.

doi:10.1152/physiol.00036.2010 [doi]

Sawada, J., Itakura, A., Tanaka, A., Furusaka, T., & Matsuda, H. (2000). Nerve growth factor functions as a chemoattractant for mast cells through both mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathways. *Blood*, 95(6), 2052-2058.

Schroder, A., Newgreen, D., & Andersson, K. E. (2004a). Detrusor responses to prostaglandin E2 and bladder outlet obstruction in wild-type and Ep1 receptor knockout mice. *The Journal of Urology*, 172(3), 1166-1170. doi:10.1097/01.ju.0000134186.58854.2c

Schroder, A., Newgreen, D., & Andersson, K. E. (2004b). Detrusor responses to prostaglandin E2 and bladder outlet obstruction in wild-type and Ep1 receptor knockout mice. *The Journal of Urology*, 172(3), 1166-1170. doi:10.1097/01.ju.0000134186.58854.2c

Schussler, B. (1990). Comparison of the mode of action of prostaglandin E2 (PGE2) and sulprostone, a PGE2-derivative, on the lower urinary tract in healthy women. A urodynamic study. *Urological Research*, 18(5), 349-352.

Sexton, C. C., Notte, S. M., Maroulis, C., Dmochowski, R. R., Cardozo, L., Subramanian, D., & Coyne, K. S. (2011). Persistence and adherence in the treatment of overactive bladder syndrome

with anticholinergic therapy: A systematic review of the literature. *International Journal of Clinical Practice*, 65(5), 567-585. doi:10.1111/j.1742-1241.2010.02626.x [doi]

Sievert, K. D., Chapple, C., Herschorn, S., Joshi, M., Zhou, J., Nardo, C., & Nitti, V. W. (2014).

OnabotulinumtoxinA 100U provides significant improvements in overactive bladder symptoms in patients with urinary incontinence regardless of the number of anticholinergic therapies used or reason for inadequate management of overactive bladder. *International Journal of Clinical Practice*, 68(10), 1246-1256. doi:10.1111/ijcp.12443 [doi]

Skaper, S. D. (2008). The biology of neurotrophins, signalling pathways, and functional peptide

mimetics of neurotrophins and their receptors. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, 7(1), 46-62.

Skaper, S. D. (2012). The neurotrophin family of neurotrophic factors: An overview. *Methods in*

Molecular Biology (Clifton, N.J.), 846, 1-12. doi:10.1007/978-1-61779-536-7_1; 10.1007/978-1-61779-536-7_1

Steers, W., & Tuttle, J. (2006 February). Mechanisms in disease: The role of nerve growth factor in

the pathophysiology of bladder disorders. *Nature Clinical Practice.Urology*, 3(2), 101-110.

doi:10.1038/ncpuro0408

Stewart, W. F., Van Rooyen, J. B., Cundiff, G. W., Abrams, P., Herzog, A. R., Corey, R., . . . Wein,

A. J. (2003). Prevalence and burden of overactive bladder in the united states. *World Journal of*

Urology, 20(6), 327-336. doi:10.1007/s00345-002-0301-4

Su, X., Leon, L. A., Wu, C. W., Morrow, D. M., Jaworski, J. P., Hieble, J. P., . . . Laping, N. J. (2008).

Modulation of bladder function by prostaglandin EP3 receptors in the central nervous system.

American Journal of Physiology.Renal Physiology, 295(4), F984-94.

doi:10.1152/ajprenal.90373.2008; 10.1152/ajprenal.90373.2008

- Sun, T. T. (2006). Altered phenotype of cultured urothelial and other stratified epithelial cells: Implications for wound healing. *American Journal of Physiology.Renal Physiology*, 291(1), F9-21. doi:10.1152/ajprenal.00035.2006
- Taiwo, Y. O., & Levine, J. D. (1990). Effects of cyclooxygenase products of arachidonic acid metabolism on cutaneous nociceptive threshold in the rat. *Brain Research*, 537(1-2), 372-374. doi:0006-8993(90)90389-S [pii]

- Tanner, R., Chambers, P., Khadra, M. H., & Gillespie, J. I. (2000). The production of nerve growth factor by human bladder smooth muscle cells in vivo and in vitro. *BJU International*, 85(9), 1115-1119. doi:bjus62 [pii]
- Virchow, J. C., Julius, P., Lommatzsch, M., Luttmann, W., Renz, H., & Braun, A. (1998). Neurotrophins are increased in bronchoalveolar lavage fluid after segmental allergen provocation. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 158(6), 2002-2005. doi:10.1164/ajrccm.158.6.9803023 [doi]
- Von Euler, U. S. (1939). Further studies of prostaglandin, the physically active substance of certain genital glands. [Weitere Untersuchungen ueber Prostaglandin, die physiologisch aktive Substanz gewisser Genitaldruesen] *Skandinavisches Archiv Fur Physiologie*, 81, 65-80.
- Wang, E. C., Lee, J. M., Ruiz, W. G., Balestreire, E. M., von Bodungen, M., Barrick, S., . . . Apodaca, G. (2005). ATP and purinergic receptor-dependent membrane traffic in bladder umbrella cells. *The Journal of Clinical Investigation*, 115(9), 2412-2422. doi:10.1172/JCI24086
- Weng, T. I., Chen, W. J., Wu, H. Y., & Liu, S. H. (2006). Uropathogenic escherichia coli alters muscle contractions in rat urinary bladder via a nitric oxide synthase-related signaling pathway. *The Journal of Infectious Diseases*, 194(12), 1774-1782. doi:10.1086/509620
- Wheeler, M. A., Hausladen, D. A., Yoon, J. H., & Weiss, R. M. (2002). Prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 induction in human urinary tract infections and bladder cancer. *The Journal of Urology*, 168(4 Pt 1), 1568-1573. doi:10.1097/01.ju.0000030583.31299.80
- Wiseman, O. J., Brady, C. M., Hussain, I. F., Dasgupta, P., Watt, H., Fowler, C. J., & Landon, D. N. (2002). The ultrastructure of bladder lamina propria nerves in healthy subjects and patients with detrusor hyperreflexia. *The Journal of Urology*, 168(5), 2040-2045. doi:10.1097/01.ju.0000034023.85736.f0

- Wu, X. R., Kong, X. P., Pellicer, A., Kreibich, G., & Sun, T. T. (2009). Uroplakins in urothelial biology, function, and disease. *Kidney International*, 75(11), 1153-1165. doi:10.1038/ki.2009.73; 10.1038/ki.2009.73
- Yokoyama, O., Miwa, Y., Oyama, N., Aoki, Y., Ito, H., & Akino, H. (2007). Antimuscarinic drug inhibits detrusor overactivity induced by topical application of prostaglandin E2 to the urethra with a decrease in urethral pressure. *The Journal of Urology*, 178(5), 2208-2212. doi:10.1016/j.juro.2007.06.044
- Yokoyama, T., Kumon, H., & Nagai, A. (2008). Correlation of urinary nerve growth factor level with pathogenesis of overactive bladder. *Neurourology and Urodynamics*, 27(5), 417-420. doi:10.1002/nau.20519
- Yoshimura, N., Kaiho, Y., Miyazato, M., Yunoki, T., Tai, C., Chancellor, M. B., & Tyagi, P. (2008). Therapeutic receptor targets for lower urinary tract dysfunction. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 377(4-6), 437-448. doi:10.1007/s00210-007-0209-z
- Zygmunt, P. M., Petersson, J., Andersson, D. A., Chuang, H., Sorgard, M., Di Marzo, V., . . . Hogestatt, E. D. (1999). Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature*, 400(6743), 452-457. doi:10.1038/22761

9 Anhang

9.1 Inkontinenzfragebogen (ICIQ-UI-SF)

1. Bitte tragen Sie Ihr Geburtsdatum ein: _____

2. Sind Sie? (Bitte ein Feld ankreuzen) weiblich männlich

3. Wie häufig verlieren Sie Harn? (Bitte ein Feld ankreuzen)

- | | | |
|--------------------------|---------------------------------------|---|
| <input type="checkbox"/> | niemals | 0 |
| <input type="checkbox"/> | ungefähr 1 Mal pro Woche oder weniger | 1 |
| <input type="checkbox"/> | zwei oder drei Mal pro Woche | 2 |
| <input type="checkbox"/> | ungefähr 1 Mal pro Tag | 3 |
| <input type="checkbox"/> | mehrmals am Tag | 4 |
| <input type="checkbox"/> | ständig | 5 |

4. Wie viel Harn verlieren Sie gewöhnlich? (unabhängig davon, ob Sie Vorlagen tragen oder nicht) (Bitte ein Feld ankreuzen)

- | | | |
|--------------------------|--------------------------|---|
| <input type="checkbox"/> | kein Harnverlust | 0 |
| <input type="checkbox"/> | eine kleine Menge Harn | 2 |
| <input type="checkbox"/> | eine mittlere Menge Harn | 4 |
| <input type="checkbox"/> | eine große Menge Harn | 6 |

5. Wie sehr beeinträchtigt generell der Harnverlust Ihren Alltag?

Bitte markieren Sie eine Zahl zwischen 0 und 10

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
überhaupt
nicht
stark

Summenscore der Fragen 3+4+5: _____

6. Wann verlieren Sie Harn? (Bitte kreuzen Sie zutreffendes an)

- niemals – kein Harnverlust
- Harnverlust vor dem Erreichen der Toilette
- Harnverlust beim Husten oder Niesen
- Harnverlust während des Schlafes
- Harnverlust bei körperlicher Betätigung/sportlicher Aktivität
- Harnverlust nach dem Wasserlassen und Wiederankleiden
- Harnverlust ohne erkennbare Ursache
- ständiger Harnverlust

Vielen Dank!

9.2 Fragebogen zum Gesundheitszustand

King's Health Questionnaire

1. Wie würden Sie zur Zeit Ihren allgemeinen Gesundheitszustand beschreiben?

- Sehr gut
- Gut
- Mittelmäßig
- Schlecht
- Sehr schlecht

2. Wie sehr wirkt sich Ihrer Meinung nach Ihr Blasenproblem auf Ihr Leben aus?

- Überhaupt nicht
- Ein wenig
- Mäßig
- Sehr

Bitte kreuzen Sie an, wie sehr Sie in den folgenden Bereichen im Alltag durch Ihr Blasenproblem beeinträchtigt sind!

	Einschränkungen bei Alltagsaktivitäten	Nicht vorhanden	Überhaupt nicht	Ein wenig	Mäßig	Sehr
3.	In welchem Ausmaß beeinträchtigt Sie Ihr Blasenproblem bei Ihren Aufgaben im Haushalt (z.B. Putzen, Einkaufen usw.)?					
4.	Beeinträchtigt Ihr Blasenproblem Ihre berufliche Arbeit oder Ihre üblichen täglichen Aktivitäten außerhalb des Hauses?					

Wie sehr belasten Sie Ihre Probleme?

Bitte zutreffendes ankreuzen!

	Körperliche/Soziale Einschränkungen	Nicht vorhanden	Überhaupt nicht	Ein wenig	Mäßig	Sehr
5.	Beeinträchtigt Ihr Blasenproblem Ihre körperlichen Aktivitäten (z.B. Spazieren gehen, Laufen, Sport, Gymnastik)?					
6.	Beeinträchtigt Ihr Blasenproblem Ihre Fähigkeit zu reisen?					
7.	Schränkt Sie Ihr Blasenproblem im Kontakt mit Menschen ein?					
8.	Schränkt Ihr Blasenproblem Ihre Fähigkeit ein, Freunde zu treffen/zu besuchen?					

	Persönliche Beziehungen	Nicht vorhanden	Überhaupt nicht	Ein wenig	Mäßig	Sehr
9.	Beeinträchtigt Ihr Blasenproblem die Beziehung zu ihrem Partner?					
10.	Beeinträchtigt Ihr Blasenproblem Ihr Sexualleben?					
11.	Beeinträchtigt Ihr Blasenproblem Ihr Familienleben?					

	Gefühlszustand	Nicht vorhanden	Überhaupt nicht	Ein wenig	Mäßig	Sehr
12.	Sind Sie wegen Ihres Blasenproblems deprimiert?					
13.	Sind Sie wegen Ihres Blasenproblems ängstlich oder nervös?					
14.	Beeinträchtigt Ihr Blasenproblem Ihr Selbstwertgefühl?					

	Schlaf/Energie	Nie	Manchmal	Oft	Immer	
15.	Beeinträchtigt Ihr Blasenproblem Ihren Schlaf?					
16.	Fühlen Sie sich wegen Ihres Blasenproblems erschöpft/müde?					
17.	Tragen Sie Einlagen, um trocken zu bleiben?					
18.	Achten Sie darauf, wie viel Flüssigkeit Sie trinken?					
19.	Wechseln Sie Ihre Unterwäsche, wenn Sie nass wird?					
20.	Haben Sie Angst zu riechen?					
21.	Ist Ihnen Ihr Blasenproblem peinlich?					

Bitte kreuzen Sie an, wie sehr Sie in den folgenden Bereichen im Alltag durch Ihr Blasenproblem beeinträchtigt sind!

Wie sehr belasten Sie Ihre Probleme?

Bitte zutreffendes ankreuzen!

		Ein wenig	Mäßig	Sehr	Nicht zutreffend
22.	Häufigkeit: sehr oft zur Toilette gehen				
23.	Nächtlicher Harndrang: nachts aufstehen, um Wasser zu lassen				
24.	Starker und schwer kontrollierbarer Drang, Wasser zulassen				
25.	Unwillkürlicher Harnabgang, verbunden mit dem starken Drang Wasser zu lassen				
26.	Unwillkürlicher Harnabgang bei körperlicher Aktivität, z.B. Husten, Niesen, Laufen				
27.	Nächtliches Bettnässen				
28.	Unwillkürlicher Harnabgang beim Geschlechtsverkehr				
29.	Häufige Harnwegsentzündungen				
30.	Blasenschmerzen				
31.	Schwierigkeiten beim Wasser lassen				
32.	Weiteres Blasenproblem Wenn ja, welches?				

Vielen Dank!

10 Abkürzungsverzeichnis

ACh	Acetylcholin
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BDNF	brain derived neurotrophic factor
BoNT-A	Onabotulinumtoxin A
Ca ⁺⁺	Calcium
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
COX	Cyclooxygenasen
DO	Detrusorüberaktivität
DRU	digital rektale Untersuchung
EP1-4	Prostaglandin E-Rezeptoren
G-Protein	GTP-bindende Proteine
GAG	Glykosaminoglykan
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure
HRP-konjugiert	horse radish peroxidase conjugated Streptavidin
ICIQ-SF	International Consultation on Incontinence Questionnaire - short form
ICS	International Continence Society
IE	internationale Einheit
IP ³ -Rezeptor	Inositoltriphosphat-Rezeptor
K ⁺	Kalium
kDa	Kilo-Dalton
KHQ	King's Health Questionnaire
M	molare Masse
Min.	Minute

Abkürzungsverzeichnis

ml	Milliliter
µl	Mikroliter
mm	Millimeter
M. detrusor	Musculus detrusor vesicae
MU	mouse units
Na ⁺	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
N. hypogastricus	Nervus hypogastricus
N. pudendus	Nervus pudendus
sNGF	Serum-nerve growth factor
nm	Nanometer
NO	Stickoxid
OAB	over active bladder
o.g.	oben genannt
p	p-Wert, Wahrscheinlichkeit
Pat.	Patient
	Pikogramm
pg	Prostaglandin
PG	Prostaglandin I-F
PG I-F	Serum-Prostaglandin E2
sPGE2	Proteinkinase C
PKC	Neurotrophin-Rezeptor p75
p75 ^{NTR}	Korrelationskoeffizient
P2X3	purinergic receptor P2X3
r	rounds per minute
rpm	Standardabweichung
SD	synaptosomal-associated protein 25
SNAP-25	soluble <i>N</i> -ethylmaleimide-sensitive-factor attachment
SNARE	receptor

SPSS	statistical package for social sciences
SV	synaptic vesicles
TMB one-step	3,3,5,5'- Tetramethylbenzidin
TrKA	Tyrosinkinasezeptor A
TRP	transient receptor potential channel
TRPV1	transient potential vanilloid receptor 1
TXA2	Thromboxan A2
whs	wahrscheinlich
VAMP	vesicle associated membrane protein

Veröffentlichungen / Kongressbeiträge / Sonstiges

Originalien

1. Hegele, A., **Knippschild, S.**, Frohme, C., Hänze, J., Olbert, P., & Hofmann, R. (2014) Changes in prostaglandin E2 in patients with idiopathic overactive bladder syndrome after botulinum toxin type A treatment: Is there a clinical benefit? *BMC Urology*, 14, 85-2490-14-85. Gleichberechtigte Autorenschaft
2. **Knippschild, S.**, Frohme, C., Olbert, P., Hofmann, R., Hegele, A. (2012) Value of nerve growth factor levels in overactive bladder syndrome: Alterations after botulinum toxin therapy. *Der Urologe. Ausg. A*, 51(3), 379-383.

Kongressbeiträge

1. Jahreskongress der European Association of Urology in Paris 2012,
2. Jahreskongress der American Urology Association in Atlanta 2012,
3. Jahreskongress der Südwestdeutschen Gesellschaft für Urologie in Wiesbaden 2012
4. Jahreskongress der Deutschen Kontinenzgesellschaft Würzburg 2012
5. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Urologie in Leipzig 2012

Auszeichnungen/Preise

Werner-Staehler-Gedächtnis Preis

für den Postervortrag:

„Wertigkeit des "nerve growth factor" beim Syndrom der überaktiven Blase:

Veränderungen nach Botulinumtoxin-Therapie“

der Südwestdeutschen Gesellschaft für Urologie 2012.

Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer in Marburg waren die Damen/Herren:

Aumüller, Baum, Barth, Basler, Becker, Boudriot, Czubayko, Geks, Gerdes, Görg, Gotzen, Griss, Grzeschik, Gudemann, Hertl, Hofmann, Jungclas, Kill, Klose, Koolmann, Krieg, Kroll, Kruse, Lenz, Lill, Löffler, Lohoff, Maier, Maisch, Mittag, Moll, Moosdorf, Mueller, Mutters, Neubauer, Oertel, Radsak, Ramaswamy, Remschmidt, Renz, Richter, Roeßler, Schäfer, Schmidt, St. Schmidt, Steiniger, Stiletto, Vogelmeier, Weihe, Weiler, Werner, Westermann, Wulf, Ziring

Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei den Personen, die maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Allen voran **Herrn Prof. Dr. Axel Hegele**, geschäftsführender Oberarzt der Klinik für Urologie und Kinderurologie der Universität Marburg, für die Übernahme als Doktorandin, die Überlassung des Themas und die gute Betreuung.

Allen Mitarbeitern der urologischen Ambulanz und auf den Stationen der Urologischen Klinik danke ich für die Unterstützung bei der praktischen Durchführung dieser Arbeit.

Mein Besonderer Dank richtet sich an **Frau Oplesch** aus dem urologischen Forschungslabor für die aufwändigen Probemessungen im Urin.

Meinen Freundinnen **Kathrin Simonis** (für immer und ewig) und **Theresa Kleber** danke ich für die immer offenen Ohren und hilfreichen Tipps rund um die Doktorarbeit.

Mein größter Dank gilt meinem Freund **Max Rhiem**, der mich in jeglicher Gemütslage unterstützt, unermüdlich motiviert und ermutigt hat, diese Arbeit zum Abschluss zu bringen.

Ehrenwörtliche Erklärung

„Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel **„Veränderungen von NGF und PGE2 bei Patienten mit überaktiver Blase nach BoNT-A Therapie – Biomarker bei OAB?“** in der Klinik für Urologie und Kinderurologie der Philipps-Universität Marburg unter Leitung von apl. Prof. Dr. med. Axel Hegele ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischen medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden im Rahmen von Postervorträgen mit dem Titel *„Wertigkeit des Nerve Growth Factor beim Syndrom der überaktiven Blase – Veränderungen nach Botulinumtoxin Therapie“* und *„Veränderungen des Biomarkers Prostaglandin E2 im Serum (sPGE2) bei Patienten mit idiopathischer OAB nach BTX-A Therapie: gibt es einen klinischen Nutzen?“* auf den Jahrestagungen der Südwestdeutschen Gesellschaft für Urologie in Wiesbaden (6/2012), der Deutschen Gesellschaft für Urologie (9/2012), am Kongress der European Association Of Urology (2/2012) sowie am Kongress der American Urology Association (5/2012) vorgestellt. Dazu wurden beiliegende Abstracts eingereicht.“

Köln, den 28. April 2015