

Aus der Urologischen Klinik  
der Medizinischen Fakultät Mannheim  
(Direktor: Prof. Dr. med. M. S. Michel)

Rolle und Einfluß verschiedener  $\beta$ -adrenerger Rezeptoragonisten und  
-antagonisten – sowie unspezifischer Phospholipase C- und Cyclooxygenase-  
Hemmer auf Kontraktion und Relaxation des humanen und porcinen  
Musculus detrusor - eine pharmakologische in-vitro-Studie

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des medizinischen Doktorgrades  
der  
Medizinischen Fakultät Mannheim  
der Ruprecht-Karls-Universität  
zu  
Heidelberg

vorgelegt von  
Tobias Seja

aus  
Ludwigshafen a.Rh.  
2017

Dekan: Prof. Dr. med. S. Goerdts  
Referentin: Frau Priv.-Doz. Dr. med. J. K. Badawi

Ich widme diese Arbeit meiner Frau Rita Wiesing-Seja,  
welche mir immer begleitend zur Seite stand.

# INHALTSVERZEICHNIS

Seite

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	1
1 EINLEITUNG .....	2
1.1 Overactive bladder - Evaluierung und klinischer Hintergrund .....	2
1.2 Was sind $\beta$ -Adreno-Rezeptoren ?.....	5
1.3 Therapie bei hyperaktivem Detrusor und Dranginkontinenz .....	5
1.3.1 Systemische Pharmakotherapie.....	8
1.3.2 Neue medikamentöse Therapieansätze .....	8
1.4 Andere Therapieansätze neben der medikamentösen Therapie .....	9
1.5 Cyclooxygenase und Cyclooxygenasehemmer .....	10
1.6 Kosten, Epidemiologie und Gesundheitswesen.....	11
1.7 Ziel der Arbeit .....	13
2 MATERIAL UND METHODEN .....	14
2.1 Vorbereitende Maßnahmen: Entnahme und Präparation.....	14
2.1.1 Herkunft des tierisches Materials.....	14
2.1.2 Transport .....	14
2.1.3 Vorbereitung im Labor und Präparation .....	14
2.1.4 Herkunft des menschliches Gewebes.....	15
2.1.5 Technische Geräte und Datenerfassung.....	16
2.2 Lösungen .....	16
2.3 Substanzen.....	16
2.4 Versuchsdurchführung.....	18
2.4.1 Erstellung der Relaxationswirkungskurve für Katecholamine und $\beta$ -Agonisten am humanen Musculus detrusor .....	18
2.4.2 Erstellung der Relaxationswirkungskurve für den selektiven $\beta_2$ -Agonisten Clenbuterol am Musculus detrusor der Spezies Schwein.....	18
2.4.3 Musculus detrusor des Schweins: Hemmender Einfluß des selektiven $\beta_2$ - Antagonisten Butoxamin sowie des selektiven $\beta_3$ -Antagonisten SR59230A auf die Relaxationswirkungskurve von Isoprenalin.....	19

2.4.4	Musculus detrusor des Schweins: Hemmung Carbachol-induzierter maximaler Kontraktionen durch Indomethazin in Konzentrationen von $10^{-5}$ M und $10^{-6}$ M.....	19
2.4.5	Musculus detrusor des Schweins: Wirkung von Indomethazin in einer Konzentration von $10^{-5}$ M und $10^{-6}$ M auf die Wirkungskurve von Carbachol.....	20
2.4.6	Musculus detrusor des Schweins: Wirkung des unspezifischen Phospholipase-C-Inhibitors U73122 in einer Konzentration von $10^{-5,5}$ M auf die Konzentrationswirkungskurve von Carbachol.....	20
2.5	Statistische Auswertung .....	21
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>22</b>
3.1	Mensch: Ermittlung der Rangfolge der relaxierenden Potenzen der endogenen Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin sowie des Isoprenalins (unselektiver $\beta$ -Adrenozeptor-Agonist).....	22
3.2	Mensch: Relaxation Kalium-induzierter Kontraktionen .....	24
3.2.1	durch die selektiven $\beta_3$ -Agonisten BRL 37344, CGP 12177.....	24
3.2.2	durch den selektiven $\beta_2$ -Agonisten Clenbuterol .....	25
3.3	Schwein: Relaxation Kalium-induzierter Kontraktionen durch den selektiven $\beta_2$ -Agonisten Clenbuterol.....	26
3.4	Schwein: Hemmender Effekt selektiver $\beta$ -Adrenorezeptor-Antagonisten auf die Isoprenalin-induzierte Relaxationswirkungskurve durch.....	27
3.4.1	den selektiven $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Antagonisten Butoxamin, verwendet in vier verschiedenen Konzentrationen .....	27
3.4.2	den selektiven $\beta_3$ -Adrenorezeptor-Antagonisten SR59230A, verwendet in vier verschiedenen Konzentrationen .....	28
3.5	Hemmung der Phospholipase C und Cyclooxygenase .....	29
3.5.1	Hemmung Carbachol-induzierter Kontraktions-Peaks durch Indomethazin in einer Konzentration von $10^{-5}$ M und $10^{-6}$ M .....	29
3.5.2	Effekte von Indomethazin in Konzentrationen von $10^{-5}$ M und $10^{-6}$ M auf die Carbachol-induzierte Konzentrations-Wirkungskurve .....	29
3.5.3	Wirkung des Phospholipase C-Inhibitors U73122 in einer Konzentration von $10^{-5,5}$ M auf die Konzentrations-Wirkungskurve von Carbachol.....	30
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>31</b>
4.1	Wissenschaftliche Studien zu $\beta$ -Adrenorezeptoren der Harnblase unter Einbeziehung eigener Erkenntnisse.....	31
4.2	Wissenschaftlicher Hintergrund und Erklärung zur „rank order of potency“ der endogenen Katecholamine.....	39
4.3	Klinische Anwendung von selektiven $\beta_3$ -Adrenorezeptoren bei überaktiver Blase.....	39
4.4	Rolle der Prostaglandine für Kontraktion und Relaxation der Harnblase .....	40

5 ZUSAMMENFASSUNG.....	47
6 LITERATURVERZEICHNIS .....	48
7 LEBENSLAUF .....	58
8 DANKSAGUNG.....	59

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

- $\beta$ -AR:  $\beta$ -Adrenorezeptoren  
COX: Cyclooxygenase  
DMSO: Dimethylsulfoxid  
OAB: Overactive bladder  
lg: Logarithmus  
LUTS: Lower urinary tract syndrom  
M: Mol  
M.: Musculus  
mM: millimolar  
pD<sub>2</sub>: negativer dekadischer Logarithmus der Konzentration einer Substanz, mit der ein halbmaximaler Effekt erzielt wird, entspricht dem pEC<sub>50</sub>-Wert  
pEC<sub>50</sub>: negativer dekadischer Logarithmus der Konzentration, bei der ein Substrat seinen halbmaximalen Effekt erzielt, entspricht dem pD<sub>2</sub>-Wert  
pK<sub>B</sub>: Affinität eines Antagonisten zum Rezeptor als Maß seiner Potenz. Scheinbare Dissoziationskonstante des Antagonisten – Rezeptorkomplexes.

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Overactive bladder - Einführung und klinischer Hintergrund

Überaktive Blase oder „overactive bladder“ OAB, wird laut der Internationalen Gesellschaft für Kontinenz (international continence society) seit 2002 definiert und zusammengefaßt unter den Symptomen „Dranggefühl mit oder ohne Dranginkontinenz, gewöhnlich verbunden mit vermehrter Miktionsfrequenz und nächtlicher Miktion (Wein et al., 2002) und zwar in Abwesenheit einer Pathologie oder metabolischer Bedingungen, die diese Symptome erklären können (Abrams et al., 2002).“

Diese anderen Pathologien, also krankhaften Veränderungen, können metabolische Erkrankungen bzw. Schädigungen sein, wie z.B. Diabetes mellitus, aber auch ein Karzinomleiden, z. B. das Urothelkarzinom der Harnblase.

Ebenso können anatomische Veränderungen, wie eine unterhalb der Blase gelegene Verengung, eine sogenannte infravesikale Obstruktion, gemeint sein (Wein et al., 2006).

Die in der Definition beschriebene „Abwesenheit einer Pathologie“, also das Fehlen einer krankhaften Veränderung, bezieht sich darauf, daß sowohl der Harnwegsinfekt, als auch die anderen Pathologien das gleiche Beschwerdebild auslösen können wie die überaktive Blase, obgleich eine solche nicht vorliegt. Dies voneinander mittels Diagnostik abzugrenzen sollte der erste Schritt auf dem Weg zu einer erfolgreichen Behandlung einer OAB sein.

Diagnostische Mittel hierbei sind eine vollständige, umfassende Anamnese, weiterhin das Führen eines Miktionsprotokolls, die exakte klinische Untersuchung, Uroflowmetrie mit Restharmessung, Urinanalyse sowie die Abklärung des oberen Harntraktes.

Weitere Diagnostik sollte sich bei jeglichem Anhalt für eine neurologische Genese oder anderer richtungsweisender Hinweise anschließen (Schönberger et al., 2003).

Alle in der Definition erwähnten Symptome bezeichnen „lower urinary tract symptoms“ - kurzgenannt LUTS. Diese sogenannten „Symptome des unteren Harntrakts“ fassen verschiedene Symptome der Füllungs- sowie Entleerungsphase der Harnblase zusammen (Abrams, 1994; Abrams, 1995). Die Symptome der Füllungsphase, früher als „irritative Symptome“ bezeichnet, setzen sich aus Pollakisurie, d.h. vermehrtem Wasserlassen, Drangsymptomatik und Dranginkontinenz zusammen. Symptome der Miktionsphase, im früheren Sprachgebrauch als „obstruktive Symptome“ bezeichnet, betreffen ein verzögertes Wasserlassen, einen abgeschwächten Harnstrahl, angestregtes Wasserlassen (im Sinne von Pressen bei der Miktion) [engl. straining], Restharngefühl, sowie einen zwischenzeitlich unterbrochenen Harnstrahl, der dann wieder zunimmt [intermittency] (Abrams, 1994).

Eine Blaseninstabilität (inzwischen ist der Begriff veraltet) kann zu den oben angegebenen irritativen Symptomen führen bzw. die Symptome sind zurückzuführen auf eine Detrusorhyperaktivität.

Von größter Wichtigkeit bei den Symptomen ist hier sicherlich der Grad der Beschwerden und ihr Einfluß auf die Lebensqualität des Patienten (Abrams, 1995).

Mittlerweile wird LUTS nicht mehr nur als Terminus für Symptome des Mannes verwendet, sondern als geschlechtsunabhängige, nicht-organbezogene Gruppe von Symptomen verstanden, die mit dem Alter zunehmen und fortschreiten (Chapple et al., 2008).



Ihre Behandlung sollte sowohl konservative Maßnahmen, Lifestyle-Veränderungen und Verhaltens-Modifikationen umfassen ebenso wie Medikation und ggf. chirurgische Therapie (Abrams et al., 2009).

Unterschieden werden muß noch die Einteilung der überaktiven Blase (OAB) (Mehnert et al., 2009; Amend et al., 2010) in

1. Neurogene überaktive Blase:

hier liegt eine neurologische Grunderkrankung, wie z.B. Encephalomyelitis disseminata, besser bekannt als Multiple Sklerose, oder ein Morbus Parkinson vor. Aber auch eine traumatische Querschnittslähmung kann der Grund dafür sein.

2. Nicht-neurogene OAB: es liegt keine neurologische Grunderkrankung bzw. kein neurologisches Korrelat im weiteren Sinne vor.

Beiden Formen gemeinsam ist eine urodynamisch nachweisbare Hyperaktivität des Musculus detrusor.

Die überaktive Blase ist ein Symptomenkomplex, bestehend aus den hauptsächlichsten Symptomen Pollakisurie (vermehrtem Wasserlassen), Nykturie (nächtliches Wasserlassen) und imperativem Harndrang (Gefühl, auf die Toilette gehen zu müssen) (Schönberger, 2003) bis hin zur Dranginkontinenz.

Von der Inkontinenz im Zusammenhang mit Dranggefühl, einer sogenannten Urge-Inkontinenz, ist eigentlich die Belastungsinkontinenz abzugrenzen (früher als Streßinkontinenz bezeichnet). Diese letztere Form der Inkontinenz bildet sich, wie der Name schon sagt, im Zusammenhang mit einer, wie auch immer gearteten Belastung aus. Es gibt allerdings nicht selten eine Kombination aus beiden, eine sogenannte Mischinkontinenz, mit sowohl ungewolltem Urinabgang im Zusammenhang mit Dranggefühl, als auch im Rahmen einer, wie auch immer gearteten körperlichen Belastung, wie z.B. Niesen oder Husten (Abrams et al., 2002; Thüroff et al., 2011).

Für beide Inkontinenzformen existieren unterschiedliche Therapien.

Harnblaseninkontinenz ist eines der urologischen Hauptproblemfelder, deren Ursachenfindung auf den ersten Blick z.T. banal erscheint, letzten Endes jedoch ein durchaus komplexes Themengebiet darstellt.

OAB ist mit einigen Komorbiditäten vergesellschaftet, wie z.B. Harnwegsinfekte, Hautveränderungen, Schlafstörungen, weiterhin Depression und sexuelle Dysfunktion (Brown et al., 2000); aber auch Stürze und Frakturen sind indirekte Folgen der OAB. Einen weiteren signifikanten Einfluß hat OAB auf den Arbeitssektor sowie das soziale Leben (Irwin et al., 2006). Alle diese eben genannten Komorbiditäten verursachen Kosten, welche die der Behandlung der OAB um ein Vielfaches überschreiten (Reeves et al., 2006). Konservative Maßnahmen wie z.B. Beckenbodengymnastik (mit oder ohne elektrische Stimulation und Biofeedback) haben einen großen Stellenwert bei der Belastungsinkontinenz sowie bei funktionellen Blasenfunktionsstörungen. Bei der hyperaktiven Blase kommt der medikamentösen Therapie eine große Bedeutung zu (Abrams et al., 2010).

Studien bzgl. des Anteils der medikamentösen Therapie bei OAB geben eine unterschiedliche Datenlage wieder. Laut Reeves (Reeves et al., 2006) nahmen nur ca. 6 % der von OAB Betroffenen eine medikamentöse Therapie ein. Die Autoren führten dies in Ihrer Studie darauf zurück, daß nur 40 % der Betroffenen den Arzt konsultierten; von diesen wiederum bekamen nur 16 % ein Rezept ausgestellt.

Viele Präparate sind bereits auf ihre klinische Anwendung zur Therapie der OAB getestet worden. Die zur Zeit im klinischen Alltag verwendeten und zugelassenen Medikamente sind in der Regel M-Cholino-Rezeptoren blockierende Substanzen wie Oxybutinin, Propiverin, Tolterodin, Fesoterodin sowie Trospiumchlorid, Darifenacin und Solifenacin (Andersson, 2009; Thüroff et al., 2011; Lucas et al., 2015).

Natürlich haben auch diese Substanzen neben der gewünschten Wirkung gewisse Nebenwirkungen. Mit steigender Dosis treten diese unerwünschten Nebenwirkungen gehäuft auf (Novara et al., 2008). Nebenwirkungen wie Mundtrockenheit, Obstipation, Kopfschmerzen, trockene Augen und Akkommodationsstörungen (Abrams and Andersson, 2007; Epstein et al., 2006) stellen das Durchhaltevermögen des Patienten auf die Probe. Zudem können kognitive Störungen auftreten, betroffen davon sind meistens eher ältere Personen (Basra et al., 2008). Nebenwirkungen treten insgesamt bei jedem vierten Patienten auf (Basra et al., 2008). So brechen nicht wenige Patienten Tage bis Wochen nach Beginn die medikamentöse Therapie ab. Die Gründe liegen in den bereits frühzeitig auftretenden, bereits vorher genannten Nebenwirkungen. Die Wirkung kommt zum Zeitpunkt des Therapieabbruchs noch nicht voll zum Tragen. Aufgrund mangelnden Effekts sieht der nur mit den Präparat-Nebenwirkungen konfrontierte Patient keinen zu erwartenden Gewinn in Form von Symptomreduktion. Daneben spielen psychologische, soziale sowie kulturelle Faktoren eine Rolle bei der Wahrnehmung des Patienten bzgl. eines Effekts der medikamentösen Therapie (Basra et al., 2008). Aber auch die Applikationsform der aktuellen medikamentösen Therapie - transdermal versus oral, Retard-Präparate versus Medikamente mit sofortiger Wirkstofffreisetzung - spielt eine Rolle bzgl. Compliance und kontinuierlicher Fortsetzung der Medikation (Basra et al., 2008).

In jüngster Zeit finden sich auch vermehrt Anzeichen dafür, daß längst nicht alle Patienten auf eine Therapie mit Antimuskarinergika ansprechen.

So zeigte eine Arbeitsgruppe um Herbison (Herbison et al., 2003) in einer systematischen Auswertung von randomisiert kontrollierten Studien eine nur eingeschränkte klinische Bedeutung der Antimuskarinergika bezgl. Symptomreduktion bei der Therapie der überaktiven Blase (Herbison et al., 2003). Insgesamt waren die Verbesserungen zwar statistisch signifikant, traten jedoch sowohl in der Verum- als auch in der Placebo-Gruppe auf. In einer Meta-Analyse von Novara fanden sich erhebliche individuelle Unterschiede bzgl. Wirksamkeit und Verträglichkeit von Antimuskarinergika (Novara et al., 2008).

Die antimuskarinerge Therapie findet sich weiterhin in den aktuellen europäischen Leitlinien (Lucas et al., 2015), es wird auf den negativen Einfluß der Medikamente auf die kognitive Leistung bei älteren Patienten hingewiesen.

Mit Mirabegron (= YM 178) wurde nun erstmals auf Ebene einer europäischen Richtlinie (Thüroff et al., 2011) ein Vertreter der in dieser Arbeit untersuchten Substanzklasse (selektive beta-3-Rezeptor-Agonisten) als medikamentöse Therapiealternative bei der OAB genannt. Auch in den USA findet diese Substanzgruppe Eingang als mögliche Therapiealternative bei der OAB (Ellsworth, 2012).

Im Speziellen wird ein Großteil dieser Arbeit von Substanzen handeln, die an  $\beta$ -Adreno-Rezeptoren ansetzen.

## 1.2 Was sind $\beta$ -Adreno-Rezeptoren ?

Die  $\beta$ -Adreno-Rezeptoren ( $\beta$ -AR im Folgenden genannt) sind Teil des vegetativen, d.h. des autonomen Nervensystems (Karow and Lang-Roth, 2015), sie kommen an vielfältigen Orten im Körper mit unterschiedlicher Verteilung vor.

Als  $\beta$ -Adreno-Rezeptoren bezeichnet man eine Gruppe G-Protein-gekoppelter Rezeptoren, an denen Hormone, wie z.B. die „Streß“-Hormone Adrenalin und Noradrenalin binden können (Guimarães and Moura, 2001). Ihre Aktivierung führt über die Stimulation des G-Proteins zu einer Signalkaskade, bei der Adenylatcyclase aktiviert wird und der Second-messenger cAMP sich anhäuft (Dixon et al., 1986; Emorine et al., 1989).

Aufgrund ihrer molekularbiologischen Struktur und pharmakologischen Eigenschaften lassen sich diese in verschiedene Untergruppen klassifizieren.

Eine große Rolle spielen sie sicherlich im Herz in Form von  $\beta_1$ -Rezeptoren. Hier wirken sie sympathisch aktivierend auf Parameter wie Herzfrequenz, Kontraktilität, Erregungs-Überleitungszeit des AV-Knotens und Leitungsgeschwindigkeit (Karow and Lang-Roth, 2015). Der Parasympathikus wirkt hierbei gegensätzlich zu der genannten sympathischen Wirkung. Desweiteren bewirken  $\beta_1$ -Adrenozeptoren eine Reninfreisetzung in der Niere, somit letztendlich eine Vasokonstriktion (Karow and Lang-Roth, 2015).

Über  $\beta_2$ -Adrenozeptoren wirkt der Sympathikus dilatierend, d.h. erweiternd auf die glatte Muskulatur der Blutgefäße und der Bronchien sowie hemmend auf die Peristaltik des Magen-Darm-Trakts (Karow and Lang-Roth, 2015).

Der  $\beta_3$ -Adrenozeptor wurde zunächst im braunen Fettgewebe gefunden und beschrieben, spielte also mehr eine Rolle im embryonalen bis kindlichen Gewebe und führt dort zu Lipolyse (Karow and Lang-Roth, 2015) und Thermogenese (Piétri-Rouxel et al., 1995).

Auch beim Erwachsenen scheint der  $\beta_3$ -Adrenozeptor eine wichtige Rolle einzunehmen (Strosberg et al., 1997; Piétri-Rouxel et al., 1995). Hier betrachtet man ihn als wichtigen Regulator und Faktor im Lipidmetabolismus (Piétri-Rouxel et al., 1995).

Daneben wurde die Existenz eines  $\beta_4$ -Adreno-Rezeptors im Herzen postuliert (Kaumann and Molenaar, 1997), hierzu existieren diverse, z.T. sehr kontroverse Meinungen. Einige Autoren sehen den  $\beta_4$ -Adreno-Rezeptor lediglich als einen „Konformationszustand des  $\beta_1$ -Adreno-Rezeptors“ an (Konkar et al., 2000; Guimarães and Moura, 2001; Grannemann, 2001).

Bislang wurde dieser Rezeptortyp im Herzgewebe verschiedener Spezies beschrieben, wie z.B. Maus, Ratte, Meerschweinchen, Katze, Frettchen, sowie beim Menschen (Molenaar et al., 1997). Hier scheint er über eine zyklische AMP-Kaskade einen kardiostimulierenden Einfluß auszuüben (Kaumann and Molenaar, 1997).

Eine erste Differenzierung bei den  $\beta$ -Adreno-Rezeptoren in die beiden Untertypen  $\beta_1$  und  $\beta_2$  wurde erstmalig von Lands 1967 beschrieben (Lands et al., 1967).

Schon 1989 formulierte Emorine (Emorine et al., 1989) in einer Arbeit, daß es mehr als zwei  $\beta$ -Adreno-Rezeptoren beim Menschen geben müsse, indem er den humanen  $\beta_3$ -Adrenozeptor molekular charakterisierte. Der integrierte Membranrezeptor wurde mit ca. sieben Domänen sowie einer G-Protein-gekoppelten Aktivität beschrieben (Emorine et al., 1989; Guan et al., 1995).

Zahlreiche Arbeiten zum Nachweis des  $\beta_3$ -Adrenozeptors beim Menschen folgten (Lelias et al., 1993; Van Spronsen et al., 1993; Granneman et al., 1993; Krief et al., 1993; Enocksson et al., 1995).

Bereits in den 1980er Jahren wurde dem später als  $\beta_3$ -Adrenorezeptor identifizierten "atypischem  $\beta$ -Adrenorezeptor" in Arbeiten zu braunem Fettgewebe (Arch et al., 1984) und Lipolyse (Bojanic et al., 1985) Aufmerksamkeit zuteil.

Der Einfluß dieses Rezeptors auf den Fettgewebe-Stoffwechsel spielte auch in den folgenden Jahren in zahlreichen Veröffentlichungen (Fève et al., 1991; Krief et al., 1993; Granneman et al., 1997) eine wichtige Rolle.

Aufgrund der Spezies-/Artverwandtschaft wurden auch Studien mit Adipozytengewebe von Primaten durchgeführt (Meyers et al., 1997; Fisher et al., 1998), um Rückschlüsse auf das Vorhandensein und Zusammenspiel des  $\beta_3$ -Adrenorezeptors beim Menschen zu gewinnen. Eine andere Studie (De Souza and Burkey, 2001) ordnete den  $\beta_3$ -Adrenorezeptor in einen erweiterten Kontext von Fettstoffwechsel, Energieverbrennung und Insulin-Haushalt mit Auswirkungen auf Diabetes ein.

Seit den 1990er Jahren wurde in verschiedenen Spezies der  $\beta_3$ -Adrenorezeptor nachgewiesen, so an der Maus (Nahmias et al., 1991; Van Spronsen et al., 1993), der Ratte (Granneman et al., 1991; Seguchi et al., 1998), an Adipozyten des Meerschweinchens (Atgié et al., 1996), bei Wiederkäuern/Rindern (Piétri-Rouxel et al., 1995), aber auch an Affen-Adipozyten (Meyers et al., 1997; Fisher et al., 1998), dem Frettchen (Takeda et al., 2000), am Meerschweinchen (Akimoto et al., 2003), sowie dem Hund (Takeda et al., 2003; Yamazaki et al., 1998).

Seit den 1980er bzw. 1990er Jahren sind die Molekülstrukturen von  $\beta$ -Adreno-Rezeptoren teilweise aufgeklärt.

Johnson (1998) zeigte dies am Beispiel des  $\beta_2$ -Adreno-Rezeptors (s. Abbildung 1), welcher im Respirationstrakt eine große Rolle spielt.

Bereits vorher konnte Strosberg (1997) eine Arbeit über den  $\beta_3$ -Adreno-Rezeptor präsentieren. Auch hier handelt es sich im Grundaufbau bei dem Rezeptor um ein transmembranäres G-Protein mit intra- sowie extrazellulärem Terminus (s. Abbildung 2).

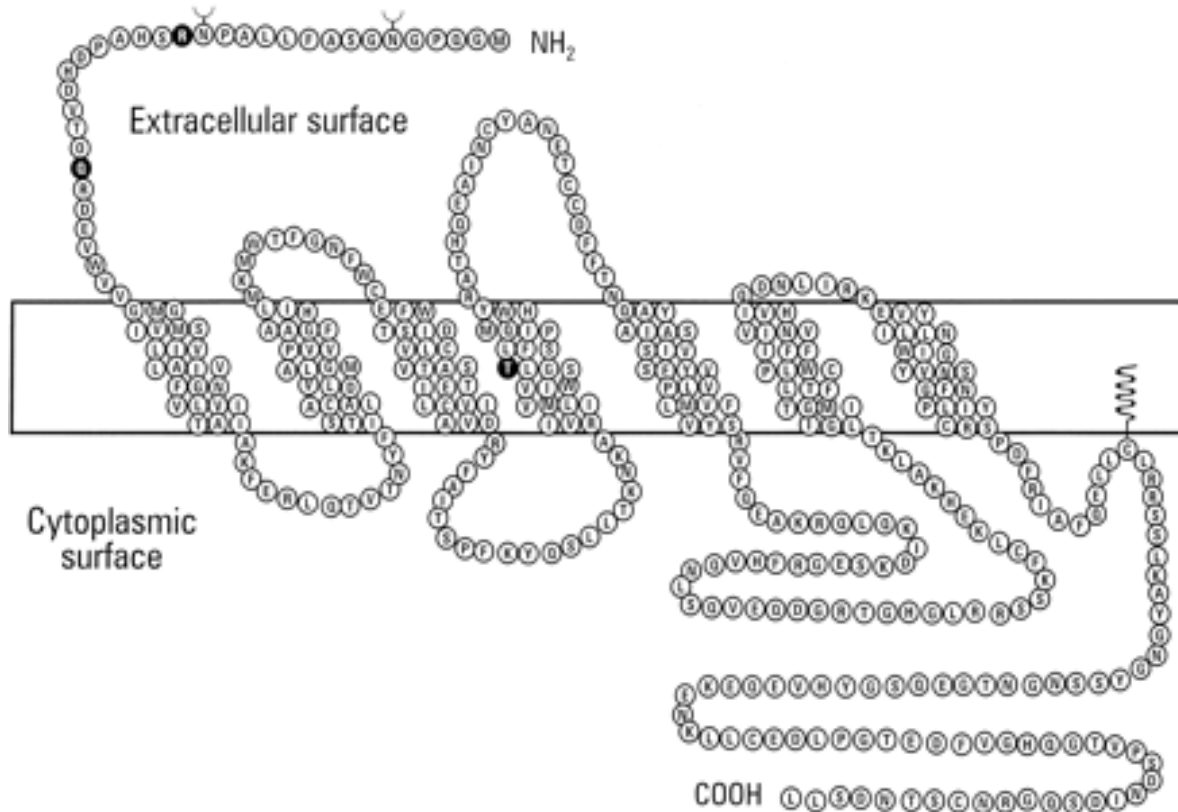


Abbildung 1: Struktur des humanen  $\beta_2$ -Adreno-Rezeptors (aus Johnson, 1998)

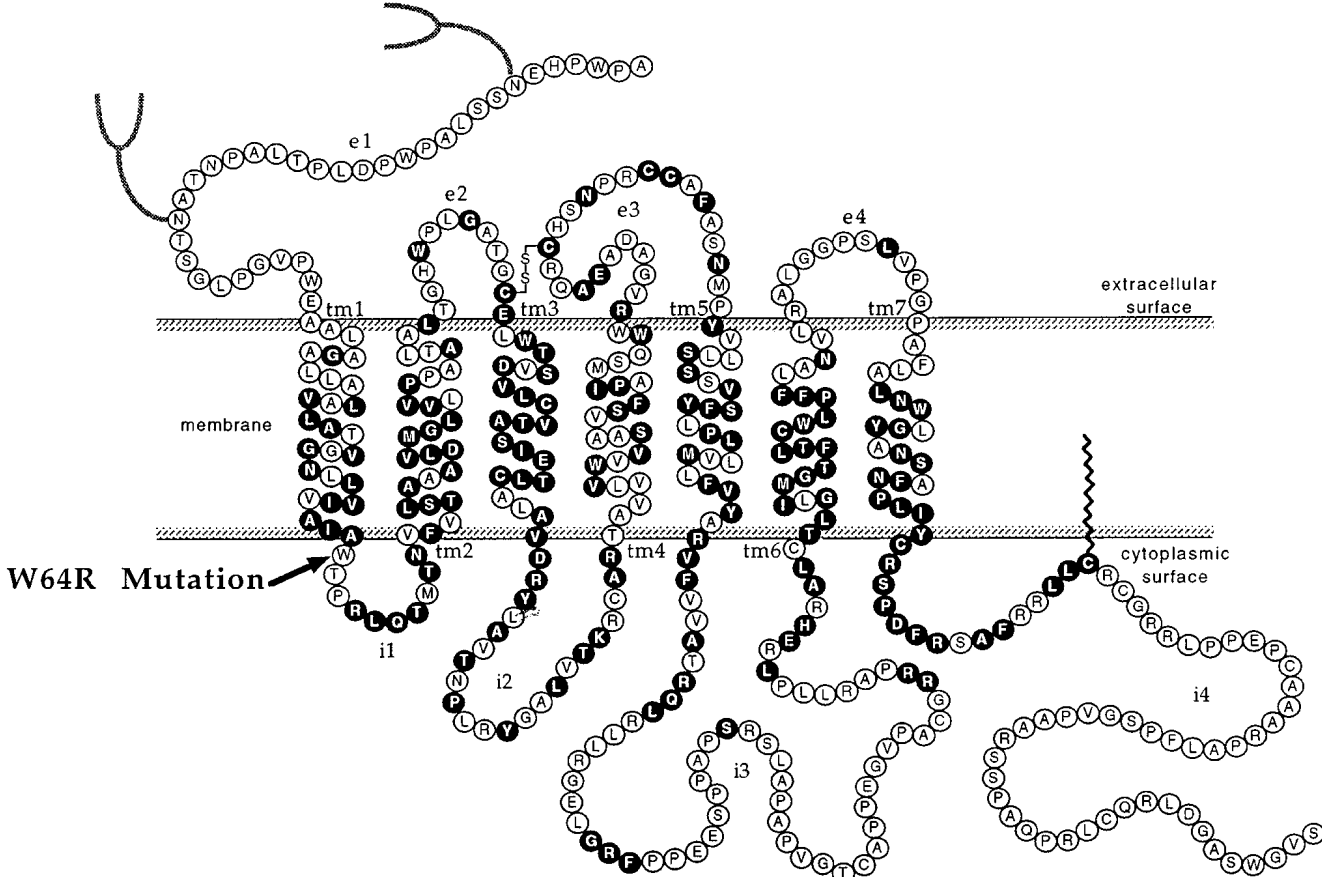


Abbildung 2: Struktur des humanen  $\beta_3$ -Adreno-Rezeptors (aus Strosberg, 1997)

## **1.3 Therapie bei hyperaktivem Detrusor und Dranginkontinenz**

### **1.3.1 Systemische Pharmakotherapie**

In den aktuellen „EAU Guidelines on urinary incontinence 2015“ finden sich weiterhin die Antimuskarinergika als hauptsächliche medikamentöse Therapie bei Dranginkontinenz (Lucas et al., 2015). Aufgezählt werden hier im Einzelnen Fesoterodin, Oxybutinin, Propiverin, Solifenacin, Tolterodin sowie Trosipiumchlorid. Alle Substanzen zeigen laut den Guidelines eine Verbesserung bzw. Heilungstendenz in Bezug auf die Dranginkontinenz. Mundtrockenheit ist bei allen Substanzen die Hauptnebenwirkung.

Weiterhin scheint es Hinweise auf einen negativen Einfluß der Medikamente auf die kognitive Leistung bei älteren Patienten zu geben, wobei die Leitlinien bei Tolterodin und Trosipiumchlorid dies nicht aufzeigen können (Lucas et al., 2015).

### **1.3.2 Neue medikamentöse Therapieansätze**

Mit Mirabegron, einem selektiven beta-3-Rezeptor-Agonisten, wurde im Juli 2011 in Japan unter dem Handelsnamen Betanis® [Astellas, Japan] erstmals ein Vertreter der in dieser Arbeit im Folgenden untersuchten Rezeptortypen für den klinischen Einsatz zugelassen (Astellas News releases, 2011; Ellsworth, 2012). Als mögliche neue Therapieoption wurde die Substanz bereits 2007 (Takasu et al., 2007) erwähnt, weitere Arbeiten (Takusagawa et al., 2012a, b; Jin et al., 2011; Tyagi et al., 2011; Eltink et al., 2012; Gras, 2012) sowie klinische Phase III-Studien hierzu folgten (Khullar et al., 2013; Nitti et al., 2014). 2011 wurde Mirabegron (YM 178) erstmals auf Ebene einer europäischen Richtlinie (Thüroff et al., 2011) als medikamentöse Therapiealternative bei der OAB genannt. Im Juni 2012 wurde der Wirkstoff unter dem Handelsnamen Myrbetriq® [Astellas, Japan] in den USA von der amerikanischen Arzneimittelbehörde (FDA) zur Therapie der OAB zugelassen (FDA News release, 2012) und ist weiterhin gelistet (FDA, 2015).

Im Bereich der Europäischen Union wurde Mirabegron (Handelsname: Betmiga®) mit Beschluß vom 20.12.2012 durch die Europäische Kommission zugelassen [European Medicines Agency, Science Medicines Health, EMA/591015/2015, EMEA/H/C/002388: Zusammenfassung des EPAR für die Öffentlichkeit Betmiga, Online: [http://www.ema.europa.eu/docs/de\\_DE/document\\_library/EPAR\\_-\\_Summary\\_for\\_the\\_public/human/002388/WC500137262.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/de_DE/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/002388/WC500137262.pdf), Stand:04.09.2016).

Nachdem Mirabegron seit 2013 in der EU erhältlich ist, erfolgte am 19.05.2014 die Zulassung unter dem europäischen Marktnamen Betmiga® in der Schweiz (Schweizerisches Heilmittelinstitut, 2014).

In den aktuellen EAU Guidelines über Harninkontinenz 2015 wird Mirabegron weiterhin aufgezählt (Lucas et al., 2015).

Die Substanz zeigt, wenn auch keine Heilung, dann jedoch eine Verbesserung der Dranginkontinenz. Als Hauptnebenwirkungen werden (in absteigender Häufigkeit) Bluthochdruck, Nasopharyngitis und Harnwegsinfekte erwähnt (Lucas et al., 2015).

#### **1.4 Andere Therapieansätze neben der systemischen medikamentösen Therapie**

Weitere Behandlungsansätze neben der reinen medikamentösen Therapie sind chirurgische Interventionen wie die sakrale Neuromodulation (Ellsworth, 2012; Thüroff et al., 2011; Abrams et al., 2010; Lucas et al., 2015] oder eine Blasenaugmentation (Athanasopoulos, 2011; Thüroff et al., 2011; Abrams et al., 2010; Lucas et al., 2015).

Ein chirurgischer Therapieansatz wie die Blasenaugmentation sollte jedoch erst nach Versagen der medikamentösen sowie minimal-invasiven Therapieversuche (z.B. intravesikales Botulinumtoxin A) in Erwägung gezogen werden (Athanasopoulos, 2011).

#### **Intravesikale Injektionsbehandlung mit Botulinum-Toxin A**

Daneben hat sich in den letzten Jahren die intravesikale Injektionsbehandlung mit Botulinum-Toxin A als weitere Therapieoption etabliert (Abrams et al., 2010; Athanasopoulos, 2011; Thüroff et al., 2011; Ellsworth, 2012; Amend et al., 2010; Lucas et al., 2015). Sie nimmt von der Invasivität eine Zwischenstellung zwischen den rein konservativen Maßnahmen, wie der Pharmakotherapie (mit z.B. Antimuskarinergika) und der operativen, chirurgischen Therapie ein (Amend et al., 2010).

Für die Indikation der neurogenen OAB wurde mit Botulinumtoxin-A (Botox®) die Substanz 2011 erstmals im urologischen Bereich zugelassen. Sie gilt für die „Behandlung einer neurogenen Detrusorhyperaktivität [...] infolge einer stabilen subzervikalen Rückenmarksverletzung oder multipler Sklerose...“ (Pressemitteilung Pharm-Allergan GmbH, 2011).

Die Zulassung zur Behandlung der idiopathischen, nicht neurogen-induzierten OAB wurde Ende Januar 2013 für Botulinumtoxin A (der Firma Allergan® [Allergan, USA]) vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) erteilt. Die Zulassung gilt für Erwachsene, bei denen eine Therapie mit Antimuskarinergika nur unzureichend gewirkt hat bzw. aufgrund von Unverträglichkeiten abgebrochen wurde (Pressemitteilung Pharm-Allergan GmbH, 2013).

Die Wirkdauer und die damit verbundene Dauer der Symptomreduktion kann dabei mit 6-24 Monaten erheblich variieren (Knüpfer et al., 2011). Die Datenlage zur Botulinumtoxin-Anwendung wird durch systemische Auswertungen (Anger et al., 2010) gestützt. Die intravesikale Injektion konnte eine Verbesserung der Symptomatik zeigen (Anger et al., 2010). In den USA ist die Anwendung des Botox-A als Zweitlinien-Therapie allein für die Indikation der neurogen-induzierten OAB beim Erwachsenen zugelassen, wenn eine Therapie mit Antimuskarinergika diesem vorausgeht und mangels Effekt bzw. aufgrund von Nebenwirkungen abgebrochen wurde (Ellsworth, 2012).

#### **Temporäre externe Elektrostimulation**

Als weitere alternative Therapieform der OAB ist daneben noch die funktionelle temporäre externe Elektrostimulation zu erwähnen.

Diese Methode gibt es seit bereits 30 Jahren, trotzdem findet sie im Alltag kaum Anwendung. Eine Arbeit von Pannek (Pannek et al., 2010) zeigte erstmals in einer retrospektiven Studie einen Effekt dieser konservativen Behandlung, sowohl bei neurogener als auch idiopathischer Detrusorhyperaktivität.

## **Sakrale Neuromodulation**

Weiterhin ist zu erwähnen als sogenannte Zweitlinien-Therapie bei der überaktiven Harnblase die sakrale Neuromodulation (Lucas et al., 2015).

Hierbei werden elektrische Impulse von einem Neuromodulator erzeugt und an Elektroden weitergeleitet. Diese Drahtelektroden werden in den S3-Foramina der Wirbelsäule positioniert, entlang des 3. Sakralnerven. Durch Impulsübertragung mittels der Elektroden lassen sich dadurch elektrische Reflexe hemmen oder aktivieren (Kessler et al., 2005; Ellsworth, 2012).

## **Perkutane Nervus-tibialis-Stimulation**

Neben der sakralen Neurostimulation darf in den USA auch die perkutane Nervus-tibialis-Stimulation laut der amerikanischen Zulassungsbehörde FDA als Zweitlinien-Therapie bei der OAB angewandt werden (Ellsworth, 2012).

So konnte kürzlich eine in den USA durchgeführte Studie mit dieser Methode eine Verbesserung bei männlichen Patienten mit neurogen induzierter OAB nach einem Schlaganfall zeigen (Monteiro et al., 2014).

### **1.5 Cyclooxygenase und Cyclooxygenasehemmer**

Eine weitere Substanzklasse, die 2011 noch in den „EAU Guidelines on urinary incontinence“ als medikamentöse Therapie in der Behandlung der überaktiven Blase aufgezählt wurde, sind Cyclooxygenase-Inhibitoren, mit den beiden Vertretern Indomethacin und Flurbiprofen (Thüroff et al., 2011). In den aktuellen „EAU Guidelines on urinary incontinence 2015“ wird diese Substanzklasse nicht mehr erwähnt (Lucas et al., 2015).

Die bekanntesten Cyclooxygenase-Inhibitoren sind die sogenannten nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR), wohl besser bezeichnet mit dem englischen Begriff „non-steroidal antiinflammatory drugs (NSAID)“.

NSAR oder englisch NSAID sind heutzutage eine der weit am Meisten eingenommenen Medikamente, obgleich ihres Potentials bezüglich Blutungen im Gastrointestinaltrakt oder Nebenwirkungen auf die Nieren bei chronischem Gebrauch (Wehling, 2014).



## 1.6 Kosten, Epidemiologie und Gesundheitswesen

Inkontinenz bedeutet nicht nur für die jeweiligen Betroffenen eine nicht unerhebliche Beeinträchtigung in ihrem sozialem Leben und Unsicherheit im Alltag, sondern stellt auch einen nicht unbedeutenden Faktor im Kostenbereich dar. Zahlen aus Studien im Jahr 2000 (Hu et al., 2004) zeigten, daß Urininkontinenz in den USA allein im Jahr 2000 Kosten von insgesamt 19,5 Milliarden Dollar verursachte, davon fielen ca. 14,2 Milliarden Dollar auf den Gemeindebereich und ca. 5,3 Milliarden Dollar belasteten die Institutionen. Im Vergleich dazu verursachte der Symptomenkomplex der überaktiven Blase Kosten von insgesamt 12,6 Milliarden Dollar. Allein durch dieses Krankheitsbild waren mit 34 Millionen Kranken doppelt so viele Personen betroffen, als allein durch Urininkontinenz mit 17 Millionen (Hu et al., 2004). Diese 34 Millionen Betroffenen bei überaktiver Blase verursachten mit 9,1 Milliarden Dollar im Gemeindebereich bzw. 3,5 Millionen Dollar bei den Institutionen jedoch weitaus weniger Kosten als solche mit Urininkontinenz, jeweils auf die durchschnittlichen Kosten pro Person hochgerechnet. Volkswirtschaftlich betrachtet betrug der Produktivitätsverlust durch Urininkontinenz, bezogen auf durchschnittliche Löhne und verlorene Arbeitstage, 553 Mio. US\$ im Vergleich zu 826,88 Mio US\$ wirtschaftlichem Schaden, welcher im selben Zeitraum (Jahr 2000) durch die überaktiven Blase entstand. Der höhere wirtschaftliche Schaden durch OAB ließ sich mit dem deutlich höheren Anteil jüngerer Menschen, welche von OAB betroffen sind, begründen (Hu et al., 2004). Im Gegensatz dazu zeigte der Autor weitaus höhere Kosten pro Einzelperson mit 801 US\$ bei der Urininkontinenz, im Vergleich zu 267 US\$ pro Betroffenenem bei der überaktiven Blase. Bei den höheren totalen sowie personenbezogenen Kosten bei der Urininkontinenz im Vergleich zur überaktiven Blase muß allerdings berücksichtigt werden, daß Betroffene mit OAB-Symptomatik und gleichzeitigem Urinverlust nicht zur Gruppe der überaktiven Blase, sondern der Urininkontinenz gezählt wurden (Hu et al., 2004).

Vergleichbare Zahlen aus Europa und Deutschland zeigen folgende Ergebnisse:

In Deutschland sind ca. 6,48 Millionen Erwachsene im Alter  $\geq 40$  Jahren von überaktiver Blase betroffen (Zahlen basierend auf einem Konsensus-Papier von 2004 aus Klotz et al., 2007). Von Inkontinenz waren ca. ein Drittel, nämlich 2,18 Millionen betroffen, davon jedoch wiederum ein Viertel, nämlich 0,53 Millionen von Dranginkontinenz. Die direkten mit dem Bereich der überaktiven Blase assoziierten Kosten belaufen sich auf ca. 3,98 Milliarden € pro Jahr. Diese verteilen sich auf 1,76 Milliarden € für Krankenversicherung, 1,80 Milliarden € für Pflegeaufwand sowie weitere 0,41 Milliarden € direkt durch Patienten verursachte Kosten (Klotz et al., 2007). Die Kosten für Pflegeaufwand belaufen sich auf ca. 0,65 Milliarden € (= 16%), Komplikationen schlagen mit 0,75 Milliarden € zu Buche und die Kosten für Medikamente beziffern sich auf 80 Millionen € (Klotz et al., 2007).

Allein ohne diese absoluten Zahlen sind die jährlichen Kosten vergleichbar mit denen von anderen chronischen Krankheiten, wie z.B. Demenz oder Diabetes mellitus (Klotz et al., 2007). So belaufen sich Krankenkassenkosten allein für den Bereich der überaktiven Blase auf 3,57 Milliarden €, für Diabetes mellitus im vergleichbaren Zeitraum auf 5,1 Milliarden €, für Demenz-Erkrankungen auf 5,6 Milliarden € (Klotz et al., 2007).

Eine Arbeit von Reeves (Reeves et al., 2006) untersuchte laufende und erwartete Kosten der OAB in verschiedenen europäischen Gesundheitssystemen (Deutschland, Italien, Spanien, Schweden, Großbritannien). Im Jahr 2000 wurde die Anzahl der von OAB Betroffenen (über 40 Jahre) mit 20,2 Millionen (bezogen auf die aufgeführten Länder) beziffert, von diesen wiederum waren 7 Millionen gleichzeitig von Dranginkontinenz betroffen. Für das Jahr 2020 wird für OAB allein ein Anstieg auf hochgerechnet 25,5 Millionen erwartet, davon wären 9 Millionen von Dranginkontinenz geplagt. Die jährlichen Kosten der OAB wurden hier mit

269-706 Euro pro Patient und pro Jahr veranschlagt. Der größte Posten bei den Kosten waren dabei die Inkontinenz-Vorlagen, sie betragen im Durchschnitt 63% der jährlichen Kosten. Die kompletten Kosten für das Gesundheitssystem (als Durchschnittswert der fünf in dieser Studie teilnehmenden Staaten) lagen bei 4,2 Milliarden Euro im Jahr 2000. Für 2020 wurde ein Wert von 5,2 Milliarden Euro angenommen, dies entspricht einer Steigerung um 26%, oder absolut 1 Milliarde Euro. Allein schon aus diesen wenigen Zahlen läßt sich die Relevanz erahnen, welche der OAB, ihrer Behandlung und den damit verbundenen Kosten in einer immer älter werdenden, aber auch zahlenmäßig ansteigenden Population zukommt. Insgesamt darf man sogar eher von etwas höheren Zahlen ausgehen, da die hier verwendeten Daten bei der errechneten Schätzung für 2020 von einer gleich gebliebenen Prävalenz der OAB, bezogen auf die jeweilige Altersgruppe, ausgehen.

Anhand der Daten einer multinational erhobenen Studie von 2006 (EPIC-Studie, 19165 Teilnehmer, Länder: Deutschland, Großbritannien, Italien, Kanada, Schweden, Männer und Frauen ab 18 Jahren, Zeitraum zwischen April bis Dezember 2005) bezifferte Irwin (Irwin et al., 2006) das Auftreten der OAB mit 11,8 % geschlechterunabhängig und zunehmend mit ansteigendem Alter.

Die Nykturie, das nächtliche Wasserlassen, wurde dabei von ca. der Hälfte aller Teilnehmer - geschlechterunabhängig - als das am häufigsten auftretende Symptom angegeben (Irwin et al., 2006; Milsom et al., 2012).

Ähnliche Ergebnisse lieferten Daten aus Korea. Hier wurde das Auftreten der OAB mit 12,2 % für beide Geschlechter beziffert (Männer 10 %, Frauen 14,3 %). LUTS traten bei ca. 61,4 % der Befragten auf und nahm auch hier mit steigendem Lebensalter zu. Speicher-Symptome traten häufiger auf als Miktionssymptome, und auch hier wurde die Nykturie als das am häufigsten auftretende Symptom (Männer 36,6%, Frauen 48,2%) angegeben (Lee et al., 2009).

Eine Analyse von Irwin (Irwin et al., 2009) anhand der Datengrundlage der EPIC-Studie von 2006 betrachtete dabei das Auftreten und den Schweregrad von LUTS in verschiedenen Untergruppen. Die Teilnehmer mit OAB zeigten mehr LUTS-Symptome sowie einen höheren Schweregrad der LUTS-Ausprägung als die anderen Gruppierungen. Eine klare Trennung der Symptomatik bezgl. LUTS ist nicht kategorisch möglich. Während vor allem die Nykturie der teilnehmenden Personen zunahm, sah man in der Gruppe mit OAB das Hauptproblem bei dem vermehrten Harndrang.

Generell nimmt die Problematik von LUTS mit steigendem Alter zu (Irwin et al., 2009).

Nach Einschätzungen anhand weltweit erhobener Daten von 2008 sind von LUTS ca. 45,2 % der Bevölkerung betroffen, das Auftreten von OAB liegt bei ca. 10,7 % (Irwin et al., 2009). Bis 2018 gehen die Hochrechnungen von einer absoluten Zahl von ca. 2,3 Milliarden Personen aus, die von LUTS betroffen sein werden, dies entspräche einem Anstieg von 18,4 %. Bezüglich der OAB wird im selben Zeitraum ein Anstieg von ca. 500 Millionen Betroffenen erwartet, entsprechend einer Steigerung von ca. 20,1 %. Den größten Anstieg betroffener Personen erwarten die Autoren für die Entwicklungsländer Afrikas mit ca. 30 % im Zeitraum 2008-2018. Eine wichtige Bedeutung hat die Einführung von Standards im öffentlichen Gesundheitswesen und im klinischen Management zur effektiven Prävention und Bewältigung dieser Aufgaben im kommenden Jahrzehnt (Irwin et al., 2011).

Anhand Zahlen aus den USA für den Zeitraum 2007 (Ganz et al., 2010) konnte belegt werden, welche ökonomische Größe und somit welche Kosten dieser Symptomenkomplex beinhaltet, und wie seine finanzielle Bedeutung weiterhin unterschätzt wird. Ganz und Kollegen (Ganz. et al., 2010) bezifferten die jährlichen Kosten der OAB für einen Patienten

mit 1925 US\$. Hochgerechnet mit denen im Zeitraum 2007 von OAB betroffenen Patienten ergaben sich Kosten im Zeitraum von 65,9 Milliarden US\$.

Mehr noch als die von den Autoren (Ganz. et al., 2010) hochgerechneten absoluten Kosten von 76,2 Milliarden US\$ für das Jahr 2015 bzw. 82,6 Milliarden US\$ für das Jahr 2020 für die Behandlung der OAB wiegt die Aussage, der damit veranschlagte Kapitalbedarf sei fünfmal so hoch wie anhand älterer Daten geschätzt (Ganz. et al., 2010).

Schon allein aus Betroffensicht ist hier auch weitere Forschungsarbeit zu leisten.

Daneben drängt der volkswirtschaftliche Faktor sowie die gesundheitsökonomischen Kosten auf eine Lösung des Problems.

## **1.7 Ziel der Arbeit**

Diese Arbeit befaßt sich mit der relaxierenden Wirkung von selektiven  $\beta_2$ - und  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Agonisten auf den Musculus detrusor der Spezies Schwein und Mensch.

Es wurden zusätzlich Versuche mit selektiven  $\beta$ -Adrenozeptor-Antagonisten durchgeführt.

Zur weiteren Charakterisierung des vorherrschenden  $\beta$ -Adrenozeptor-Subtyps wurden Versuche mit endogenen Katecholaminen durchgeführt, um eine „rank order of potency“ zu erstellen.

Lands et al. (1967) zeigten, daß die vorhandene rank order of potency beim Überwiegen der  $\beta_2$ -Rezeptoren folgendermaßen definiert ist: Isoprenalin > Adrenalin > Noradrenalin.

Wenn jedoch  $\beta_1$ - oder  $\beta_3$ -Subtypen überwiegen, ergibt sich folgende Reihenfolge der Relaxierungspotenz mit Isoprenalin > Noradrenalin > Adrenalin (Emorine et al., 1989).

Weiterhin wurde der Einfluß des unspezifischen Cyclooxygenase-Hemmers Indomethazin sowie des Phospholipase C-Inhibitors U73122 auf die Carbachol-induzierte Kontraktion beim Schwein untersucht (Badawi et al., 2008).

Da aktuell vor allem Antimuskarinergika in der Behandlung der überaktiven Harnblase eingesetzt werden, zielt der klinische Hintergrund auf die Evaluierung weiterer neuer, bislang nicht zugelassener Substanzklassen.

## 2 MATERIAL UND METHODEN

### 2.1 Vorbereitende Maßnahmen: Entnahme und Präparation

#### 2.1.1 Herkunft des tierischen Materials

Als Spezies für die Untersuchungen dienten Schweine der sog. „Deutschen Landrasse“, Herkunft Rhein-Neckar-Kreis, welche im Schlachthof Mannheim (FVZ Fleischversorgungszentrum Mannheim) Verwendung finden. Es wurde ausschließlich tierisches Material dieses Schlachthofs bezogen. Für die Untersuchungen wurde nur Gewebe von weiblichen Schweinen verwendet. Das tierische Material wurde direkt im Anschluß an die Entnahme abgeholt.

#### 2.1.2 Transport

Der Transport der Schweineblasen vom Schlachthof bis zu den Laboreinrichtungen fand unter Verwendung eines Transportmediums statt. Dieses bestand aus Natrium-Krebs-Lösung. Die Transportzeit lag im Durchschnitt bei 30 Minuten. Die Lösungen wurden vor dem Transport der Harnblasen einer Sauerstoffbegasung unterzogen.

#### 2.1.3 Vorbereitung im Labor und Präparation

Die Entnahmetechnik gestaltete sich jedesmal nach folgendem Schema:  
Eröffnung der Harnblase an der Ventralseite mittels eines Y-Schnittes, vom Blasenhalshals beginnend, nach jeweils oben rechts und links fortsetzend.

Für die Muskelstreifen-Präparation wurde dann ein ca. 2 x 3 cm großes Teilstück aus der Blasen hinterwand mittels Schere entnommen, danach die Muscularis von jeweils Serosa sowie Mukosa freipräpariert. Es wurden gleichförmige, rechteckige, ca. 8 x 3 mm große Muskelstreifen hergestellt. Das Gewebe wurde in einer Organbadeinheit vertikal eingehängt, hierzu wurde jeweils am oberen sowie unteren Ende ein S-Haken befestigt. Das freie Ende des unteren S-Hakens wurde in einen fest am Boden installierten Haken eingehängt, der obere S-Haken in einen ebensolchen einfachen Haken, der das Ende eines frei herabhängenden Fadens bildete. Das Gewebe befand sich während der Messungen in Natrium-Krebs-Lösung, das Volumen des Badgefäßes lag bei 7 ml bzw. 5 ml (FMI/TSE-Anlage). Mittels Flüssigkeit, die in der Doppelwand des Badgefäßes floß, wurde die Temperatur der Flüssigkeit in der Badeinheit konstant auf 37 Grad Celsius gehalten, dabei erfolgte eine kontinuierliche Begasung mit einem Gasgemisch, bestehend aus 95 % Sauerstoff und 5 % Kohlendioxid.

(s. Abbildung Organbadeinheit folgende Seite)

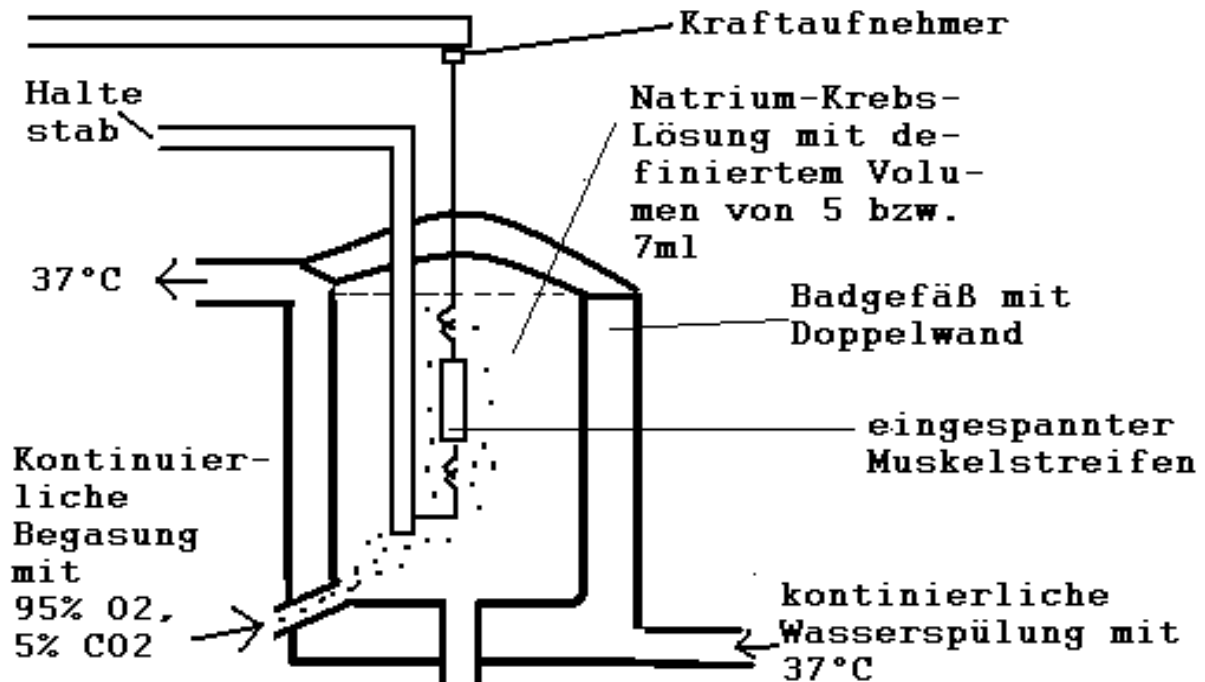


Abbildung 3: Aufbau einer Organbad-Einheit:

7 ml vertikales Organ Bad:

Die Spannung der Streifen (Muskelstreifen) wurde isometrisch mit Kraftüberträgern (Transducern) abgenommen.

#### 2.1.4 Herkunft menschliches Gewebe

Das humane Gewebe stammte von Zystektomien, die im Klinikum Mannheim im Zeitraum vom 22.07.2004 bis zum 19.01.2005 vorgenommen wurden. Die Einwilligung der Patienten zur Gewebeentnahme lag vor. Die Genehmigung der Ethikkommission lag ebenfalls vor.

Unter den Patienten befanden sich 10 Männer und 3 Frauen, wobei eine Frau ein metastasiertes Cervix-Karzinom als Grunderkrankung aufwies. Die restlichen Patienten hatten ein muskelinvasives Urothelkarzinom der Harnblase, welches die Indikation für die Zystektomie ergab. Die Altersspannbreite erstreckte sich von 39-83 Jahre, das mittlere Alter lag bei  $64,38 \pm 13$  Lebensjahren.

### 2.1.5 Technische Geräte und Datenerfassung

Die Muskelstreifen wurden vor Versuchsdurchführung bei kontinuierlichem Lösungswechsel der Natrium-Krebs-Nährlösung auf ca. 1 g vorgespannt.

Die Abnahme der isometrischen Muskelspannungen erfolgte über Transducer, es wurden hierzu zwei Meßanlagen verwendet:

1. TIM-1020 von FMI, Föhr Medical Instruments GmbH, Seeheim / Ober-Beerbach, Deutschland

2. TSE Transducer, der Technical and Scientific Equipment GmbH, Bad Homburg, Deutschland

Verwendet wurde beim Gerät unter 1. BeMon Software (Firma FMI, Seeheim / Ober-Beerbach, Deutschland) und bei der Meßeinheit unter 2. TSE BioSys 2.1 Software (Firma TSE, Bad Homburg, Deutschland).

Mittels dieser Software erfolgte die zeitgleiche Darstellung und Aufzeichnung der isometrischen Spannungsabnahme oder -zunahme an den zugehörigen Badeinheiten.

Nach Aufzeichnung der Versuchsreihe erfolgte die Analyse und Auswertung der Daten mit VitroDat 2.2A Software der Firma FMI (Seeheim / Ober-Beerbach, Deutschland).

## 2.2 Lösungen

Die Natrium-Krebs-Lösung, pH 7,4, setzte sich wie folgt zusammen:

NaCl 119 mM, KCl 4,6 mM, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 15 mM, CaCl<sub>2</sub> 1,5 mM, MgCl<sub>2</sub> 1,2 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,2 mM, Glucose 1,98 g/Liter.

Die hochmolare Kalium-Krebs-Lösung (124 mM), pH 7,4, setzte sich folgendermaßen zusammen:

KCl 124 mM, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 15 mM, CaCl<sub>2</sub> 1,5 mM, MgCl<sub>2</sub> 1,2 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,2 mM, Glucose 1,98 g/Liter

Die 30 millimolare Kalium-Krebs-Lösung wurde als Gemisch aus beiden vorherigen Lösungen hergestellt.

## 2.3 Substanzen

Folgende Substanzen wurden von Sigma-Adrich Chemie GmbH (Taufkirchen, Deutschland), bezogen:

- BRL 37344 Natriumsalz, (±)-R\*,R\*)-[4-[2-[[2-(3-Chlorophenyl)-2-hydroxyethyl]amino]propyl]phenoxy] Natrium-acetat (Molekulargewicht 385,5)

-(±)-CGP 12177 Hydrochlorid, 4-[3-[(1,1-Dimethylethyl)amino]-2-hydroxypropoxy]-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-on Hydrochlorid A (Molekulargewicht 315,8)

-(R)-(-)-Adrenalin (Molekulargewicht 183,21)

-DL-Noradrenalin-Hydrochlorid (Molekulargewicht 205,64)

- Butoxamin (Molekulargewicht 303,8)
- Carbachol: Carbamylcholinchlorid (Molekulargewicht 182,6)
- Clenbuterol-Hydrochlorid: 4-Amino-alpha((tert-butylamino)methyl)-3,5-dichlororbenzylalkohol-hydrochlorid (Molekulargewicht 313,7)
- Indomethazin: 1-(4-Chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-3-Indol-acetat (Molekulargewicht 357,79)
- Isoprenalin-Hydrochlorid (Molekulargewicht 247,7)
- Phentolamin-Hydrochlorid (Molekulargewicht 317,8)
- SR 59230A Oxalat-Salz 3-(2-ethylphenoxy)-1[(1S)-1,2,3,4-tetrahydronapht-1-ylaminol]-(2S)-2-propanol-Oxalat (Molekulargewicht 415,5)
- U 73122: [1-(6-[17 beta-3-methoxyestra-1,3,5- (10) triene -17-yl] amino/hexyl) 1H pyrrolodion] (Molekulargewicht 464,7)

**Die Stammlösungen der Substanzen wurden wie folgt hergestellt:**

- Indomethazin wurde in Ethanol (Konzentration der Stammlösung  $10^{-2}$  M),
- U73122 in Ethanol ( $10^{-3}$  M),
- Carbachol in Ethanol ( $10^{-1}$  M) gelöst.

Folgende Substanzen wurden in Aqua dest. ( $10^{-2}$  M) gelöst:  
Isoprenalin-Hydrochlorid, BRL 37344, CGP 12177A, Butoxamin, Clenbuterol, Phentolamin, Noradrenalin,

Adrenalin wurde in einem 1:1-Gemisch aus Aqua dest. und HCL 0,1 N gelöst ( $10^{-2}$  M).

SR 59230A wurde in DMSO ( $10^{-2}$  M) gelöst.

Alle weiteren Verdünnungen wurden, je nach Versuchsansatz in der entsprechenden Badlösung, bzw. im Fall des Butoxamins in Aqua dest. durchgeführt.

Die Versuchsreihen mit U 73122 wurden in lichtgeschützten Gefäßen durchgeführt.

Die Konzentrationsangaben beziehen sich auf die Konzentration im Organbad.

## 2.4 Versuchsdurchführung

### 2.4.1 Erstellung der Relaxations-Wirkungskurve für Katecholamine und $\beta$ -Agonisten am humanen Musculus detrusor

Diese Versuchsanordnung gilt für die Substanzen der „rank order of potency“ Adrenalin, Noradrenalin, Isoprenalin, für den selektiven  $\beta_2$ -Agonisten Clenbuterol, für die selektiven  $\beta_3$ -Agonisten BRL 37344 und CGP 12177.

Bei den Versuchsreihen wurden die Muskelstreifen sukzessive für insgesamt 90 Minuten auf 1 g vorgespannt, nach jeweils 30 Minuten erfolgte ein Wechsel der Natrium-Krebs-Nährlösung. Im Anschluß an die Äquilibration wurde eine Kontraktion mit einem definierten Volumen an Kalium 30 millimolarer Lösung induziert. Nach Entwicklung einer maximalen Kontraktion nahm die gemessene Spannung kontinuierlich ab bis zur Ausbildung eines stabilen Plateaus. Sodann wurde in aufsteigenden Konzentrationen von  $10^{-9}$  M beginnend in halblogarithmischen Schritten bis zur Endkonzentration  $10^{-4}$  M die Vorspannung relaxiert (die Konzentrationen sind bezogen auf das definierte Volumen des Badgefäßes). Nach der letzten Konzentration mit  $10^{-4}$  M wurde eine Schlußrelaxation mit Isoprenalin  $10^{-5.5}$  M durchgeführt. Nachdem sich keine Änderung der Spannung mehr ergab, wurden die Muskelstreifen mit Natrium-Krebs-Lösung viermal gewaschen. Es wurde dann abgewartet bis zur Ausbildung einer stabilen „baseline“, d.h. bis sich die Spannung nicht mehr änderte. Im Falle der Relaxations-Wirkungskurve mit Isoprenalin fand nach der letzten Konzentration  $10^{-4}$  M keine Schlußrelaxation mit Isoprenalin  $10^{-5.5}$  M mehr statt. Bei Adrenalin und Noradrenalin wurde der  $\alpha$ -Blocker Phentolamin in einer Konzentration von  $10^{-6}$  M hinzugefügt. Durch Hinzufügen dieses  $\alpha$ -Blockers werden durch  $\alpha$ -Adreno-Rezeptoren vermittelte Effekte blockiert, um selektiv die Wirkung an  $\beta$ -Adreno-Rezeptoren darstellen zu können. Jeder Muskelstreifen wurde insgesamt für nur jeweils eine Versuchsanordnung verwendet.

### 2.4.2 Erstellung der Relaxationswirkungskurve für den selektiven $\beta_2$ -Agonisten Clenbuterol am Musculus detrusor der Spezies Schwein

Bei den Versuchsreihen wurden die Muskelstreifen für 90 Minuten sukzessive auf 1 g vorgespannt, nach jeweils 30 Minuten erfolgte ein Wechsel der Natrium-Krebs-Nährlösung. Im Anschluß an die Äquilibration wurde eine Kontraktion mit einem definierten Volumen an Kalium 30 millimolarer Lösung induziert. Nach einer maximalen Kontraktion nahm die gemessene Spannung kontinuierlich ab bis zur Ausbildung eines stabilen Plateaus. Sodann wurde in aufsteigenden Konzentrationen von  $10^{-9}$  M beginnend in halblogarithmischen Schritten bis zur Endkonzentration  $10^{-4}$  M die Muskelstreifen-Spannung mit der zu untersuchenden Substanz oder dem jeweiligen Lösungsmittel ohne Wirksubstanz als Kontrolle relaxiert (Konzentrationen bezogen auf das definierte Volumen des Badgefäßes). Nach Erreichen der höchsten Konzentration von  $10^{-4}$  M wurde eine Schlußrelaxation mit Isoprenalin  $10^{-5.5}$  M durchgeführt. Nachdem sich keine Änderung der Spannung mehr ergab, wurden die Muskelstreifen mit Natrium-Krebs-Lösung viermal gewaschen. Es wurde dann abgewartet bis zur Ausbildung einer stabilen „baseline“, d.h. bis sich die Spannung nicht mehr änderte. Jeder Muskelstreifen wurde für nur jeweils eine Versuchsanordnung einer Substanz einmalig verwendet.



### **2.4.3 Musculus detrusor des Schweins: Hemmender Einfluß des selektiven $\beta_2$ -Antagonisten Butoxamin sowie des selektiven $\beta_3$ -Antagonisten SR59230A auf die Relaxationswirkungskurve von Isoprenalin**

Bei den Versuchsreihen wurden die Muskelstreifen für insgesamt 90 Minuten sukzessive auf 1 g vorgespannt, nach jeweils 30 Minuten erfolgte ein Wechsel der Natrium-Krebs-Nährlösung. Ab der 3. Vorspannung wurden die Badeinheiten mit einem definierten Volumen plus einem der beiden selektiven  $\beta$ -Antagonisten Butoxamin ( $\beta_2$ -AR-Antagonist) oder SR 59230A ( $\beta_3$ -AR-Antagonist) oder dem jeweiligen Lösungsmittel der Wirksubstanz in äquivalenter Konzentration ohne die entsprechende Wirksubstanzen als Kontrolle (Aqua dest. für Butoxamin bzw. DMSO für SR 59230A) gefüllt. Hierbei wurden vier verschiedene Konzentrationen für die Antagonisten verwendet:  $10^{-5}$  M,  $10^{-5.5}$  M,  $10^{-6}$  M und  $10^{-6.5}$  M, jeweils bezogen auf die Endkonzentration in der Badeinheit. Im Anschluß an die 90-minütige Äquilibration wurde eine Kontraktion mit Kalium 30 millimolarer Lösung induziert, die den jeweiligen Antagonisten bzw. dessen Lösungsmittel in der genannten Konzentration enthielt. Nach einer maximalen Kontraktion nahm die gemessene Spannung kontinuierlich ab bis zur Ausbildung eines stabilen Plateaus. Sodann wurde in aufsteigenden Konzentrationen, von  $10^{-10}$  M beginnend, in halblogarithmischen Schritten bis zur Endkonzentration von  $10^{-4}$  M die Muskelstreifen-Spannung mit Isoprenalin reduziert (Konzentrationen bezogen auf die Endkonzentration im Badgefäß). Nachdem sich keine Änderung der Spannung mehr ergab, wurden die Muskelstreifen mit Natrium-Krebs-Lösung viermal gewaschen. Es wurde dann abgewartet bis zur Ausbildung einer stabilen „baseline“ und diese ebenfalls bestimmt. Jeder Muskelstreifen wurde für nur jeweils eine Versuchsanordnung und eine Konzentration einmalig benutzt.

### **2.4.4 Musculus detrusor der Spezies Schwein: Hemmung Carbachol-induzierter maximaler Kontraktionen durch Indomethazin in einer Konzentration von $10^{-5}$ M und $10^{-6}$ M**

Bei den Versuchsreihen wurden die Muskelstreifen für eine Stunde sukzessiv auf 1 g vorgespannt, nach jeweils 30 Minuten erfolgte ein Wechsel der Natrium-Krebs-Nährlösung. Nach dieser Äquilibrationszeit wurde eine Kontraktion mit Carbachol  $10^{-5}$  M-Lösung herbeigeführt. Nach Erreichen der maximalen Kontraktion wurden die Muskelstreifen viermal gewaschen und gewartet, bis der Streifen wieder eine stabile Grundspannung erreicht hatte. Danach wurde für eine halbe Stunde äquilibriert, danach mittels  $10^{-5}$  M Carbachol-Lösung eine zweite Kontraktion ausgelöst. Nach Erreichen der maximalen Kontraktion wurden die Muskelstreifen viermal gewaschen und gewartet, bis der Streifen wieder eine stabile Grundspannung erreicht hatte. Es erfolgte nochmals ein Lösungswechsel und die Zugabe von Indomethazin oder des verwendeten Lösungsmittels in einer Konzentration von  $10^{-5}$  M bzw.  $10^{-6}$  M. Die angegebenen Konzentrationen entsprechen den Endkonzentrationen des Indomethazins im Organbad. Nach wieder 30 Minuten Äquilibration erfolgte eine dritte Kontraktion mittels  $10^{-5}$  M Carbachol-Lösung. Abschließend bei Erreichen der maximalen Kontraktion erfolgte ein viermaliges Waschen. Der maximale Wert der zweiten Kontraktion entsprach 100 %. Der maximale Wert der dritten Kontraktion eines Muskelstreifens (nach 30-minütiger Einwirkung von Indomethazin bzw. des Lösungsmittels ohne Wirksubstanz) wurde nun mit dem maximalen Wert der zweiten Kontraktion in einem gepaarten Student's T-Test verglichen. Zusätzlich wurden in einem ungepaarten Student's T-Test die 3. Kontraktion (maximaler Wert) nach Indomethazin-Einwirkung mit der 3. Kontraktion der entsprechenden

Kontrollgruppe verglichen. Mithilfe eines ANOVA-Tests (Analysis of variance) wurden die Mittelwerte der maximalen Carbachol-induzierten Kontraktion verglichen.

Jeder Muskelstreifen wurde für nur jeweils eine Versuchsanordnung und eine Konzentration einer Substanz verwendet.

#### **2.4.5 Wirkung von Indomethazin in einer Konzentration von $10^{-5}$ M und $10^{-6}$ M auf die Wirkungskurve von Carbachol**

Bei den Versuchsreihen wurden die Muskelstreifen sukzessive für eine Stunde auf 1 g vorgespannt, nach jeweils 30 Minuten erfolgte ein Wechsel der Natrium-Krebs-Nährlösung. Nach dieser Äquilibrationszeit wurde eine Kontraktion mit Kalium-124mM-Lösung herbeigeführt. Nach Erreichen der maximalen Kontraktion wurden die Muskelstreifen viermal gewaschen und gewartet, bis sich ein konstanter Wert an Restspannung einstellte. Nach Erreichen dieses Wertes wurde Indomethazin bzw. das verwendete Lösungsmittel für die Kontrollgruppe in jeweils einer Konzentration von  $10^{-5}$  M oder  $10^{-6}$  M hinzugefügt. Nach einer Einwirkzeit der Substanzen von 30 Minuten erfolgte ein Lösungswechsel. Das definierte Volumen der Natrium-Krebs-Lösung enthielt bei den Kontrollen nur das verwendete Lösungsmittel ohne Wirksubstanz. Danach wurde mittels Carbachol in aufsteigender Konzentration, beginnend bei  $10^{-9}$  M bis  $10^{-4}$  M, der Muskel in halblogarithmischen Schritten zur Kontraktion gebracht. Nach Erreichen eines Plateaus wurde die höhere Konzentration hinzugegeben bis zur Endkonzentration von  $10^{-4}$  M. Als 100%ige Kontraktion wurde die maximale Kontraktion, induziert durch 124 mM Kaliumlösung definiert. Jeder Muskelstreifen wurde für nur jeweils eine Wirkungskurve und eine Konzentration des Indomethazins verwendet.

#### **2.4.6 Wirkung des unspezifischen Phospholipase-C-Inhibitors U73122 in einer Konzentration von $10^{-5,5}$ M auf die Konzentrationswirkungskurve von Carbachol**

Bei den Versuchsreihen mit U73122 wurden die Muskelstreifen für eine Stunde sukzessiv bis 1 g vorgespannt, nach jeweils 30 Minuten erfolgte ein Wechsel der Natrium-Krebs-Nährlösung. Nach dieser Äquilibrationszeit wurde eine Kontraktion mit Kalium-124mM-Lösung herbeigeführt. Nach Erreichen der maximalen Kontraktion wurden die Muskelstreifen viermal gewaschen und gewartet, bis sich ein konstanter Wert an Restspannung einstellte. Nach Erreichen dieses stabilen Wertes wurde U73122 in einer Konzentration von  $10^{-5,5}$  M bzw. nur das verwendete Lösungsmittel für die Kontrollgruppe hinzugefügt. Nach einer Einwirkzeit von 30 Minuten erfolgte ein Lösungswechsel, das definierte Volumen der Natrium-Krebs-Lösung enthielt jeweils wieder U73122 bzw. das entsprechend verdünnte Lösungsmittel Ethanol. Danach wurde mittels Carbachol in aufsteigender Konzentration in halblogarithmischen Schritten, beginnend bei  $10^{-9}$  M bis  $10^{-4}$  M, der Muskel zur Kontraktion gebracht. Nach Erreichen einer maximalen Plateauphase wurde die höhere Konzentration hinzugegeben bis zur Endkonzentration von  $10^{-4}$  M. Als 100%ige Kontraktion wurde die maximale Kontraktion, induziert durch eine 124 mM-Kaliumlösung definiert. Jeder Muskelstreifen wurde für nur jeweils eine Versuchsanordnung und eine Konzentration des U73122 verwendet.

## 2.5 Statistische Auswertung

Die Ergebnisse für die jeweiligen Substanzen werden als Mittelwert in %  $\pm$  Standardfehler (SE) angegeben. Die Potenz einer Substanz wird durch den mittleren  $pD_2$ -Wert charakterisiert, dies ist der negative dekadische Logarithmus der Konzentration einer Substanz, mit der ein halbmaximaler Effekt erzielt wird.

In Klammern ist die für die einzelne Versuchsanordnung zur Verfügung gestandene Anzahl angegeben, wobei N die Anzahl der menschlichen Individuen bzw. Schweine und n die Anzahl der Muskelstreifen darstellt. Die statistischen Analysen wurden mittels gepaartem bzw. ungepaartem Student's T-Test durchgeführt. Ein p-Wert von  $< 0,05$  wurde als signifikant betrachtet. Außer dem Student's T-Test wurden auch statistische Tests mittels ANOVA (Analysis of Variance) durchgeführt.

### 3 ERGEBNISSE

Im Folgenden werden die Ergebnisse an den Spezies Mensch und Schwein dargestellt (Badawi et al., 2007; Badawi et al., 2008).

#### **3.1 Mensch: Ermittlung der Rangfolge der relaxierenden Potenzen der endogenen Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin sowie des Isoprenalins (unselektiver $\beta$ -Adrenozeptor-Agonist)**

Alle drei Katecholamine (Isoprenalin, Adrenalin, Noradrenalin) verursachten in einer konzentrationsabhängigen Wirkungskurve (von  $10^{-9}$  M beginnend bis zu  $10^{-4}$  M) eine Relaxation auf eine zuvor durch Kalium (30 mMol) induzierte Kontraktion beim Blasenmuskel (s. [Abbildung 4](#)).

Im Fall von Adrenalin war der maximale relaxierende Effekt bei fast allen Muskelstreifen bereits bei einer Konzentration von  $10^{-5}$  M erreicht. Ab der nächsthöheren Konzentration  $10^{-4,5}$  M zeigte der Muskel eine zunehmende Kontraktion, die auch bei Zugabe von Konzentrationsstufe  $10^{-4}$  M weiter anhielt.

Die Zugabe von Isoprenalin  $10^{-5,5}$  M im Anschluß an die letzte Adrenalin-Zugabe ( $10^{-4}$  M) zeigte keinen weiteren relaxierenden Effekt mehr.

Die Werte im Einzelnen:

Adrenalin zeigte einen maximalen relaxierenden Effekt von  $58,24 \pm 5,44$  %, für Noradrenalin wurde ein höherer Wert mit  $79,48 \pm 2,12$  % ermittelt, und Isoprenalin wurde mit einem maximalen Effekt von  $71,94 \pm 2,72$  % determiniert.

Der mittlere  $pD_2$ -Wert ist der negative dekadische Logarithmus der Konzentration einer Substanz, mit der der für die jeweilige Substanz halbmaximale Effekt erzielt wird.

Hier ergab sich für Adrenalin ein  $pD_2$ -Wert von  $6,16 \pm 1,86$  (n=12, N=12), der für Noradrenalin lag bei  $6,09 \pm 0,89$  (n=11, N=10), und für Isoprenalin ergab sich ein  $pD_2$ -Wert von  $6,18 \pm 0,15$  (n=10, N=10) .

Die „rank order of potency“ ergab sich anhand der  $pD_2$ -Werte folgendermaßen:  
Isoprenalin  $\geq$  Adrenalin  $\geq$  Noradrenalin ( $6,18 \geq 6,16 \geq 6,09$ )

Die  $pD_2$ -Werte der Katecholamine zeigten im statistischen Vergleich unter Verwendung von ANOVA sowie im Student's T-Test keinen signifikanten Unterschied.

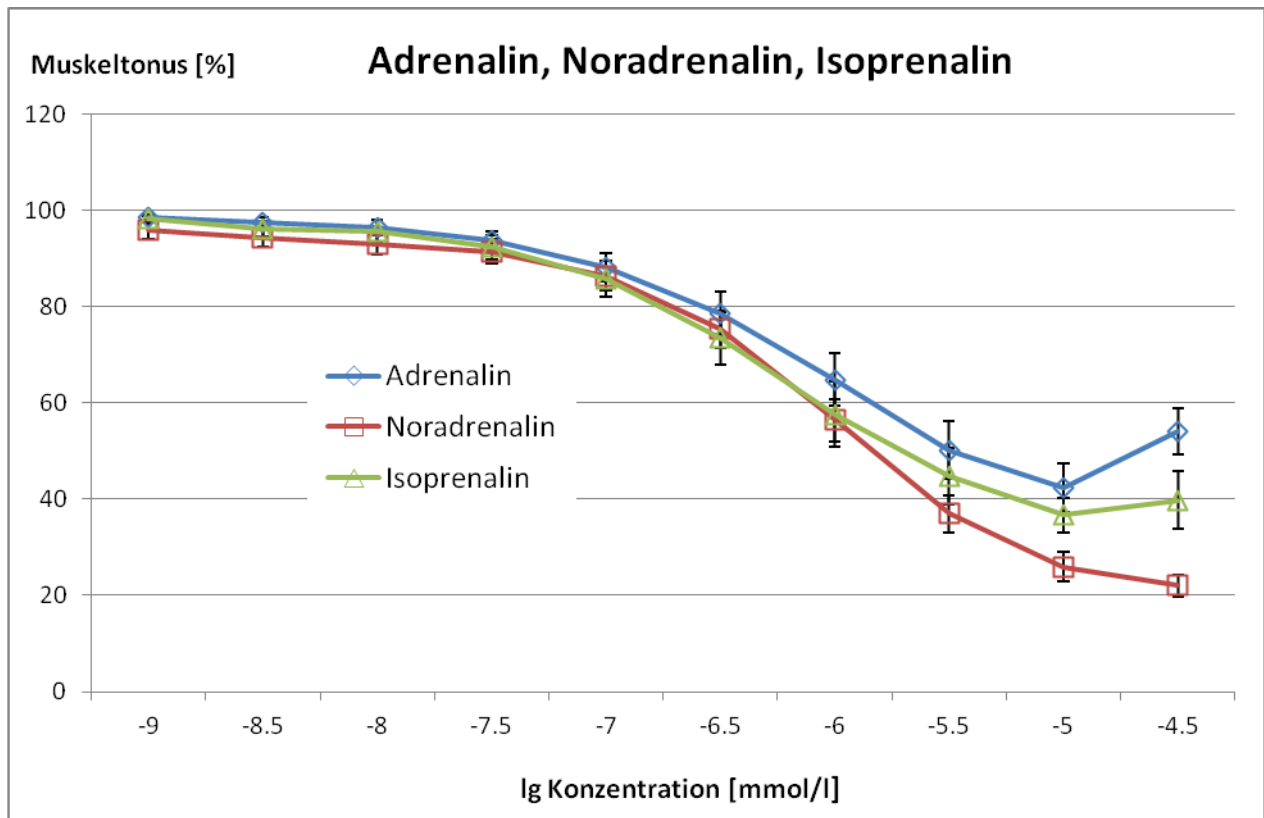


Abbildung 4: Konzentrationswirkungskurven von Adrenalin, Noradrenalin, Isoprenalin

Relaxation:

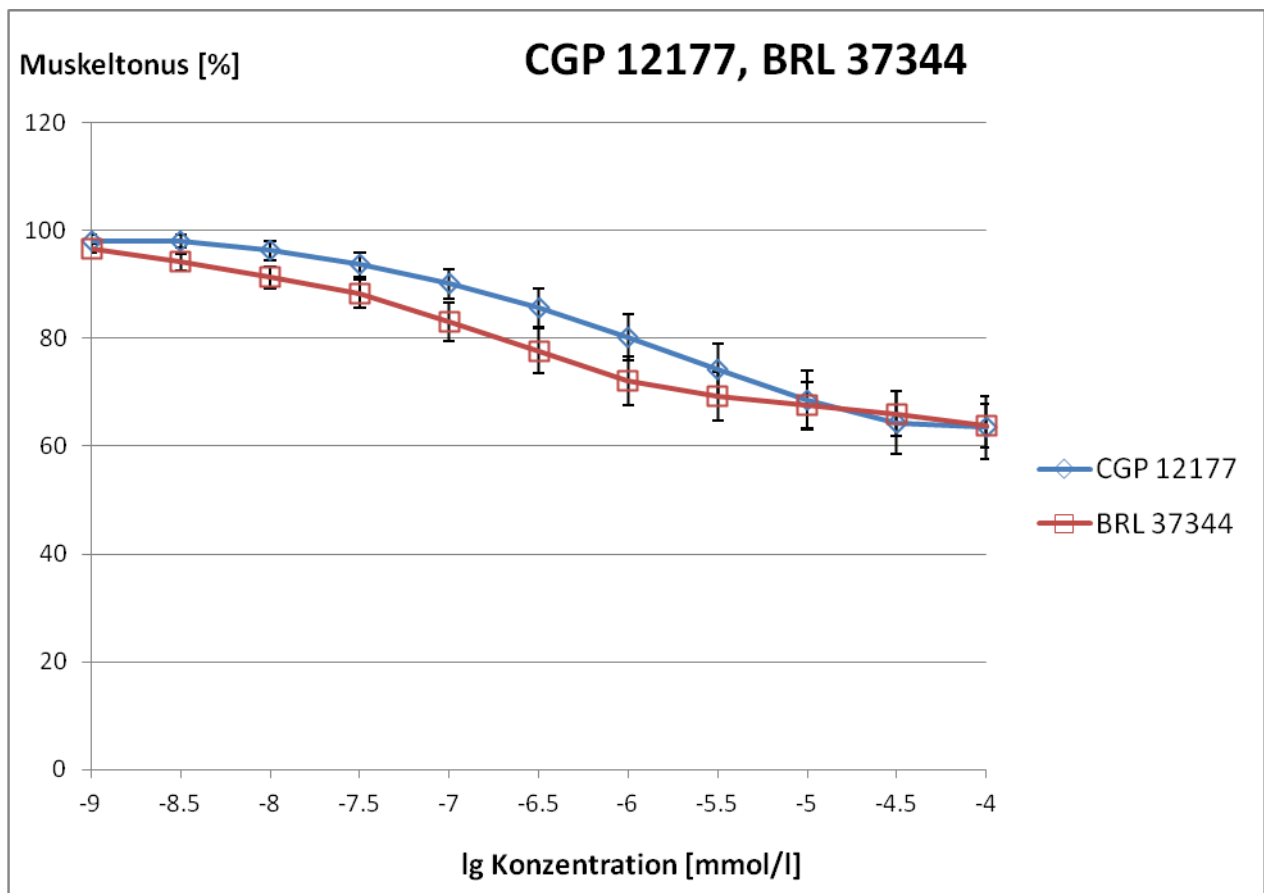
Konzentrationsabhängige Wirkungskurve (dargestellt von  $10^{-9}$  M bis  $10^{-4.5}$  M) der drei Katecholamine Adrenalin, Noradrenalin und Isoprenalin. Es wurde eine Relaxation von Muskelstreifen, stammend aus dem humanen Harnblasenmuskel durchgeführt, bei dem zuvor durch kaliumhaltige Lösung (30 mM) eine Kontraktion induziert wurde. Weiterhin wurde der Standardfehler (SE) für die einzelnen Werte der jeweiligen Kurve angegeben.

## 3.2 Mensch: Relaxation Kalium-induzierter Kontraktionen durch

### 3.2.1 die selektiven $\beta_3$ -Agonisten BRL 37344, CGP 12177

Alle selektiven  $\beta_3$ -Adrenzeptor-Agonisten zeigten in einer konzentrationsabhängigen Wirkungskurve (von  $10^{-9}$  M beginnend bis zu  $10^{-4}$  M) eine Relaxation eines Muskelstreifens, stammend aus dem humanen Harnblasenmuskel. Bei diesem Muskel wurde zuvor eine durch Kalium-haltige Lösung (30 mM) eine Kontraktion induziert (s. [Abbildung 5](#)).

Hierbei konnte für BRL 37344 ein maximaler relaxierender Effekt von  $36,25 \pm 3,99$  %, und für CGP 12177 ein maximaler Relaxationseffekt von  $36,97 \pm 5,87$  % errechnet werden.



**Abbildung 5:** Konzentrationswirkungskurven von CGP 12177, BRL 37344

#### Relaxation:

Konzentrationsabhängige Wirkungskurve ( $10^{-9}$  M bis  $10^{-4}$  M) der selektiven  $\beta_3$ -Adrenzeptor-Agonisten CGP 12177 und BRL 37344. Es wurde eine Relaxation von Muskelstreifen, stammend aus dem humanen Harnblasenmuskel durchgeführt, bei dem zuvor durch kaliumhaltige Lösung (30 mM) eine Kontraktion induziert wurde. Weiterhin wurde der Standardfehler (SE) für die einzelnen Werte der jeweiligen Kurve angegeben.

Die  $pD_2$ -Werte für die selektiven  $\beta_3$ -Adrenzeptor-Agonisten im Einzelnen:  
 für BRL 37344 betrug der mittlere  $pD_2$ -Wert  $6,73 \pm 0,18$  (n=12, N=12),  
 für CGP 12177 betrug der mittlere  $pD_2$ -Wert  $6,28 \pm 0,05$  (n=10, N=10).

### 3.2.2 Relaxation Kalium-induzierter Kontraktionen durch den selektiven $\beta_2$ -Agonisten Clenbuterol

Der getestete selektive  $\beta_2$ -Agonist Clenbuterol bewirkte in einer konzentrationsabhängigen Wirkungskurve (von  $10^{-9}$  M beginnend bis zu  $10^{-4}$  M) eine Relaxation eines Muskelstreifens, stammend aus dem humanen Harnblasenmuskel.

Bei diesem Muskel wurde zuvor durch Kalium-haltige Lösung (30 mM) eine Kontraktion induziert.

Für Clenbuterol (n=4, N=4) konnte ein maximaler relaxierender Effekt von  $27,35 \pm 5,47$  % gemessen werden (s. Abbildung 6), der mittlere  $pD_2$ -Wert für Clenbuterol lag bei  $5,34 \pm 0,49$  %.

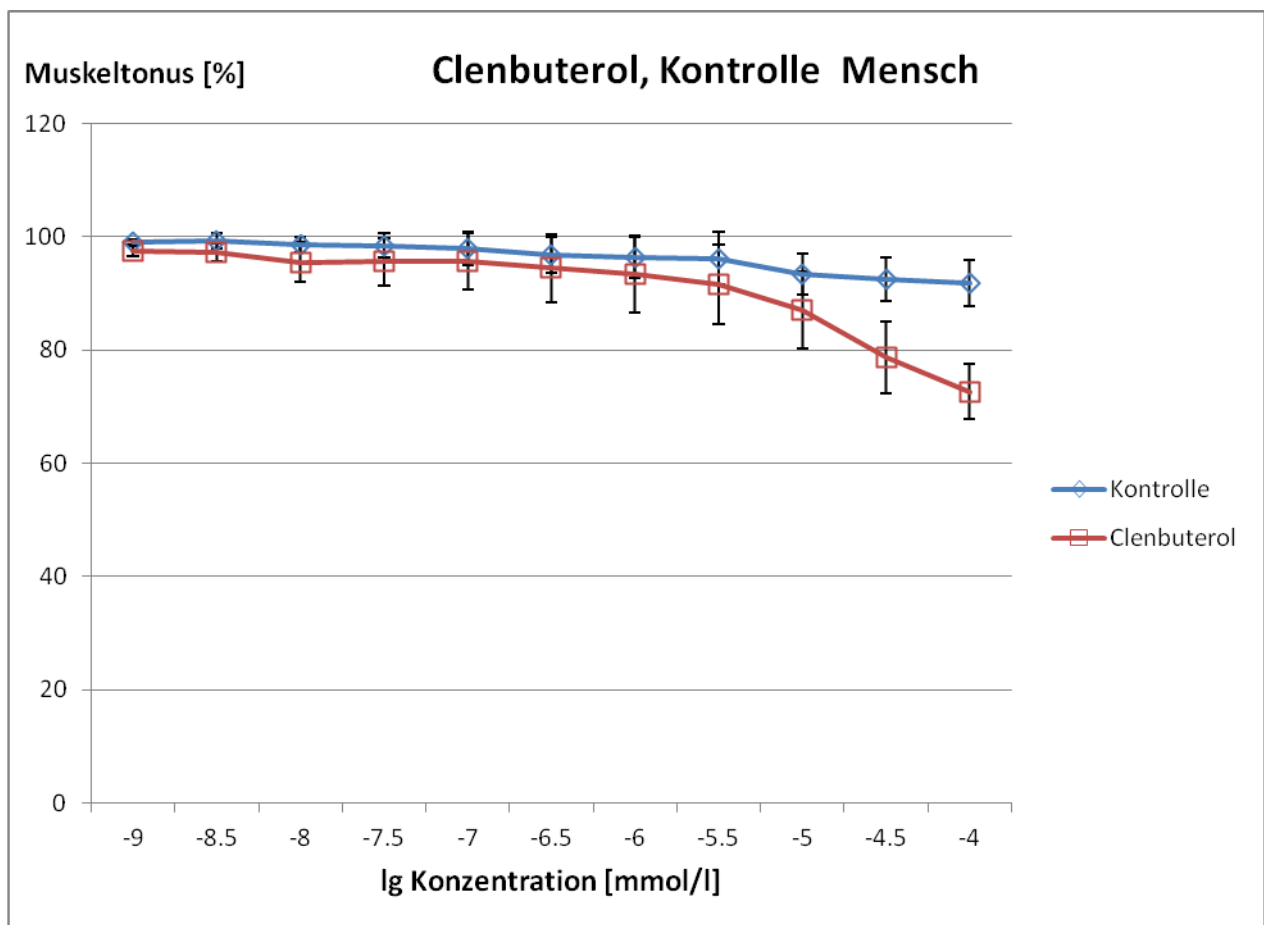


Abbildung 6: Konzentrationswirkungskurve Clenbuterol am humanen Detrusormuskel

Relaxation:

Konzentrationsabhängige Wirkungskurve ( $10^{-9}$  M bis  $10^{-4}$  M) des selektiven  $\beta_2$ -Adrenzeptor-Agonisten Clenbuterol. Es wurde eine Relaxation von Muskelstreifen, stammend aus dem humanen Harnblasenmuskel durchgeführt, bei dem zuvor durch kaliumhaltige Lösung (30 mM) eine Kontraktion induziert wurde. Weiterhin wurde der Standardfehler (SE) für die einzelnen Werte der jeweiligen Kurve angegeben.

Abgebildet wurde auch die zugehörige Kontrollgruppe (n= 16, N= 12).

### 3.3 Schwein: Relaxation Kalium-induzierter Kontraktionen durch den selektiven $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonisten Clenbuterol

Der getestete selektive  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonist Clenbuterol zeigte in einer konzentrationsabhängigen Wirkungskurve (von  $10^{-9}$  M beginnend bis zu  $10^{-4}$  M) eine Relaxation eines Muskelstreifens, stammend aus dem porcinen Harnblasenmuskel.

Bei diesem Muskel wurde zuvor durch Kalium-haltige Lösung (30 mM) eine Kontraktion induziert.

Für Clenbuterol konnte ein maximaler relaxierender Effekt von  $77,1 \pm 2,58$  % gemessen werden (s. Abbildung 7).

Der mittlere  $pD_2$ -Wert lag für Clenbuterol (n=14, N=13) bei  $7,57 \pm 0,11$  %.

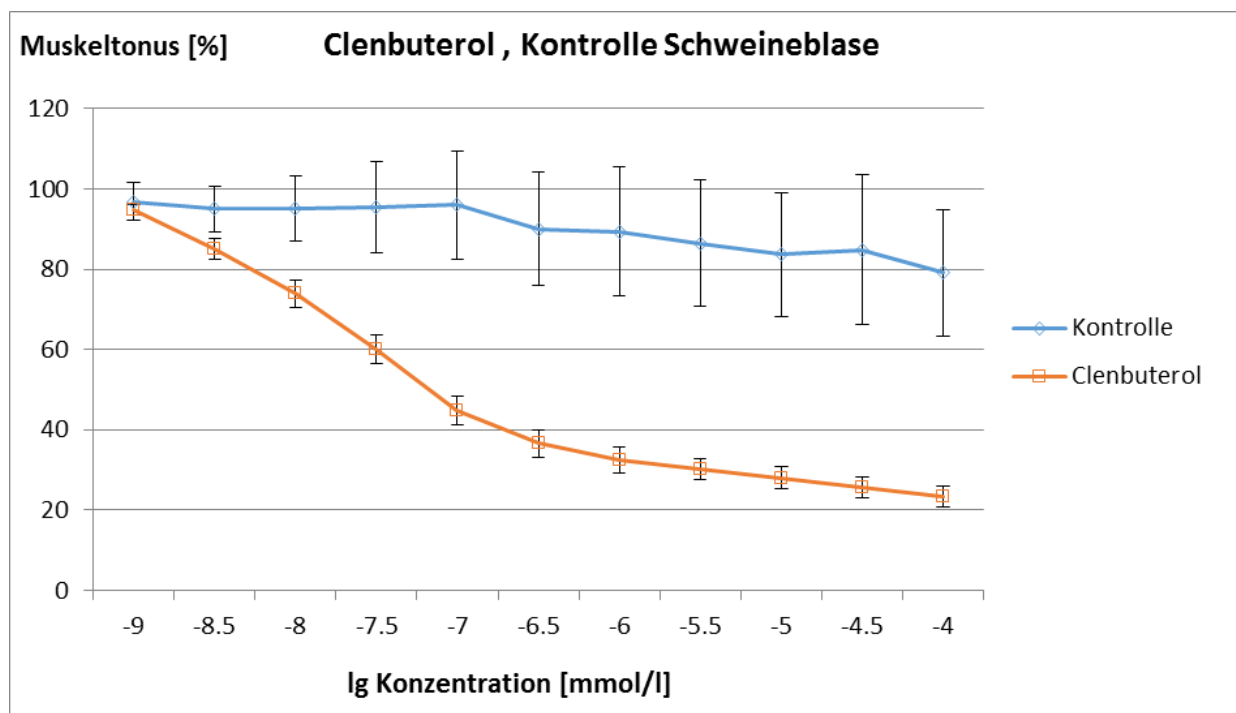


Abbildung 7: Konzentrationswirkungskurve Clenbuterol am porcinen Detrusormuskel

Relaxation:

Konzentrationsabhängige Wirkungskurve ( $10^{-9}$  M bis  $10^{-4}$  M) des selektiven  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonisten Clenbuterol. Es wurde eine Relaxation von Muskelstreifen, stammend aus dem porcinen Harnblasenmuskel durchgeführt, bei dem zuvor durch kaliumhaltige Lösung (30 mM) eine Kontraktion induziert wurde. Weiterhin wurde der Standardfehler (SE) für die einzelnen Werte der jeweiligen Kurve angegeben.

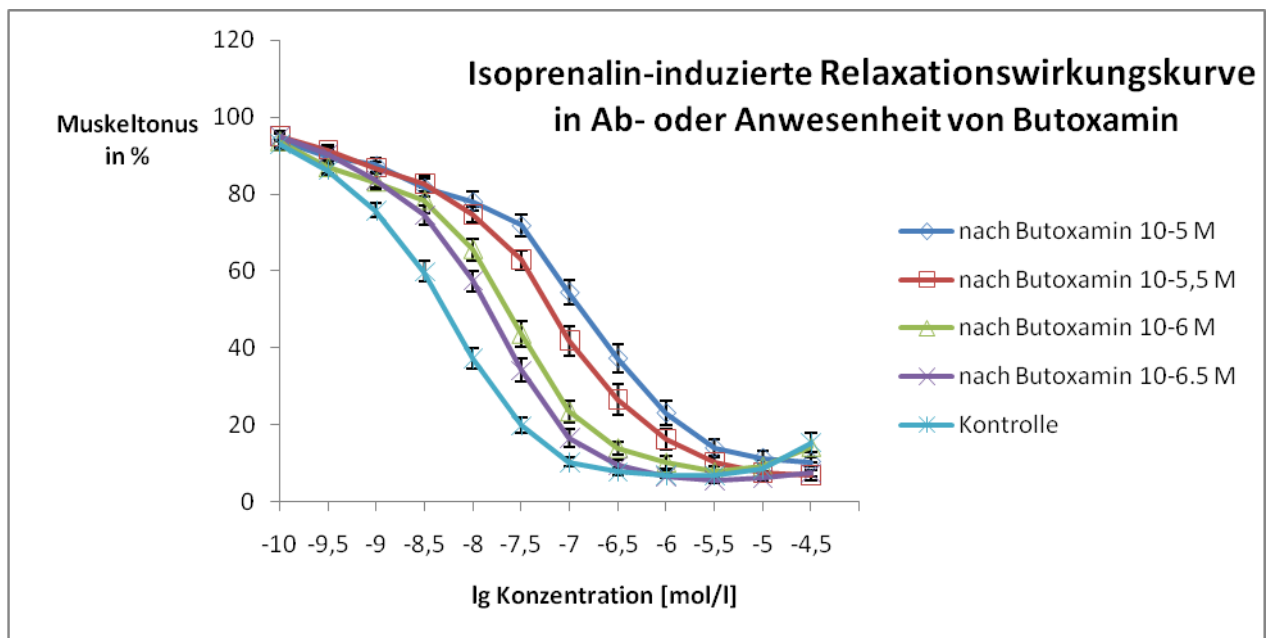
Abgebildet wurde auch die zugehörige Kontrollgruppe (n=N=6).



### 3.4 Schwein: Hemmender Effekt selektiver $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Antagonisten auf die Isoprenalin-induzierte Relaxationswirkungskurve durch

#### 3.4.1 den selektiven $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Antagonisten Butoxamin, verwendet in vier verschiedenen Konzentrationen

Nach Einwirkung des  $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Antagonisten Butoxamin in den Konzentrationen  $10^{-5}$  M,  $10^{-5,5}$  M,  $10^{-6}$  M,  $10^{-6,5}$  M beziehungsweise dem Lösungsmittel als Kontrolle zeigte sich eine Rechtsverschiebung der Isoprenalin-induzierten Relaxationswirkungskurve am Harnblasenmuskel des Schweins. Bei den Muskelstreifen wurde vorab eine Kontraktion durch kaliumhaltige Lösung (30 mM) induziert. Der  $pD_2$ -Wert wurde für die Konzentrationen  $10^{-5}$  M,  $10^{-5,5}$  M,  $10^{-6}$  M, und  $10^{-6,5}$  M mit  $6,91 \pm 0,1$ ,  $7,18 \pm 0,09$ ,  $6,77 \pm 0,64$  und  $7,88 \pm 0,07$  ermittelt. Weiterhin wurde der Standardfehler (SE) für die einzelnen Werte der jeweiligen Kurve angegeben.

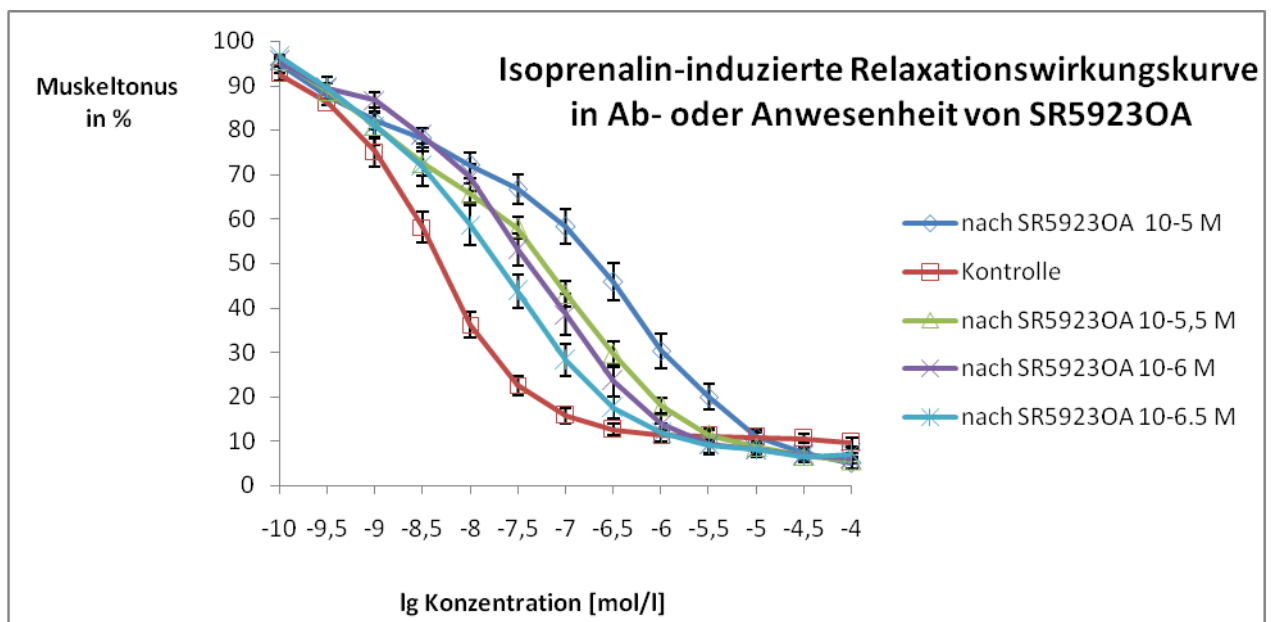


**Abbildung 8:** Isoprenalin-induzierte Relaxationswirkungskurve bei vier verschiedenen Konzentrationen von Butoxamin

Rechtsverschiebung der Isoprenalin-induzierten Relaxationswirkungskurve durch den  $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Antagonisten Butoxamin in Konzentrationen von  $10^{-5}$  M,  $10^{-5,5}$  M,  $10^{-6}$  M,  $10^{-6,5}$  M beziehungsweise dem Lösungsmittel als Kontrolle. Es wurde eine Relaxation von Muskelstreifen aus dem Harnblasenmuskel des Schweins durchgeführt, bei dem zuvor durch kaliumhaltige Lösung (30 mM) eine Kontraktion induziert wurde. Die Kurvenwerte wurden nur für Isoprenalinkonzentrationen bis  $10^{-4,5}$  M angegeben, da sich bei  $10^{-4}$  M wieder eine Kontraktion zeigte. Die maximale Relaxation wurde bereits vorher in den einzelnen Kurven erreicht. Weiterhin wurde der Standardfehler (SE) für die einzelnen Werte der jeweiligen Kurve angegeben.

### 3.4.2 den selektiven $\beta_3$ -Adrenorezeptor-Antagonisten SR59230A, verwendet in vier verschiedenen Konzentrationen

Nach Einwirkung des  $\beta_3$ -Adrenorezeptor-Antagonisten SR59230A in den Konzentrationen  $10^{-5}$  M,  $10^{-5,5}$  M,  $10^{-6}$  M,  $10^{-6,5}$  M beziehungsweise dem Lösungsmittel als Kontrolle zeigte sich eine Rechtsverschiebung der Isoprenalin-induzierten Relaxationswirkungskurve am Harnblasenmuskel des Schweins. Bei den Muskelstreifen wurde vorab eine Kontraktion durch kaliumhaltige Lösung (30 mM) induziert. Der  $pD_2$ -Wert wurde für die Konzentrationen von  $10^{-5}$  M,  $10^{-5,5}$  M,  $10^{-6}$  M und  $10^{-6,5}$  M mit  $7,26 \pm 0,52$ ,  $7,31 \pm 0,08$ ,  $7,43 \pm 0,11$  und  $7,9 \pm 0,17$  ermittelt. Weiterhin wurde der Standardfehler (SE) für die einzelnen Werte der jeweiligen Kurve angegeben.



**Abbildung 9:** Isoprenalin-induzierte Relaxationswirkungskurve bei vier verschiedenen Konzentrationen von SR59230A

Rechtsverschiebung der Isoprenalin-induzierten Relaxationswirkungskurve durch den  $\beta_3$ -Adrenorezeptor-Antagonisten SR59230A in Konzentrationen von  $10^{-5}$  M,  $10^{-5,5}$  M,  $10^{-6}$  M,  $10^{-6,5}$  M beziehungsweise dem Lösungsmittel als Kontrolle. Es wurde eine Relaxation von Muskelstreifen aus dem Harnblasenmuskel des Schweins durchgeführt, bei dem zuvor durch kaliumhaltige Lösung (30 mM) eine Kontraktion induziert wurde. Weiterhin wurde der Standardfehler (SE) für die einzelnen Werte der jeweiligen Kurve angegeben.

### 3.5 Hemmung der Phospholipase C und Cyclooxygenase

#### 3.5.1 Hemmung Carbachol-induzierter Kontraktions-Peaks durch Indomethazin in einer Konzentration von $10^{-5}$ M und $10^{-6}$ M versus Ethanol als Kontrolle

Nach Vorbehandlung mit Indomethazin in Konzentrationen von  $10^{-5}$  M (N=n=6) und  $10^{-6}$  M (N=n=4) konnte keine signifikante Reduktion sowohl im gepaarten als auch ungepaarten Student's T-Test der maximalen Carbachol-induzierten Kontraktion gezeigt werden. In den Kontrollgruppen für  $10^{-5}$  M (N=n=5) und  $10^{-6}$  M (N=n=6) wurde jeweils nur das Lösungsmittel eingesetzt.

#### 3.5.2 Effekte von Indomethazin in Konzentrationen von $10^{-5}$ M und $10^{-6}$ M auf die Carbachol-induzierte Konzentrations-Wirkungskurve

Auf die konzentrationsabhängige Carbachol-induzierte Wirkungskurve ließ sich ein, wenn auch nur schmaler, jedoch signifikanter Effekt von Indomethazin ( $p < 0,05$ ) sowohl nach Einwirkung von  $10^{-5}$  M (n=12, N=12) als auch  $10^{-6}$  M (n=20, N=17) nachweisen. In den Kontrollgruppen (n=12, N=11) wurde jeweils nur das Lösungsmittel eingesetzt.

Der Effekt ließ sich für die Konzentrationen Carbachol  $10^{-8}$  M und Carbachol  $10^{-7,5}$  M zeigen und ist in [Abbildung 10](#) dargestellt.

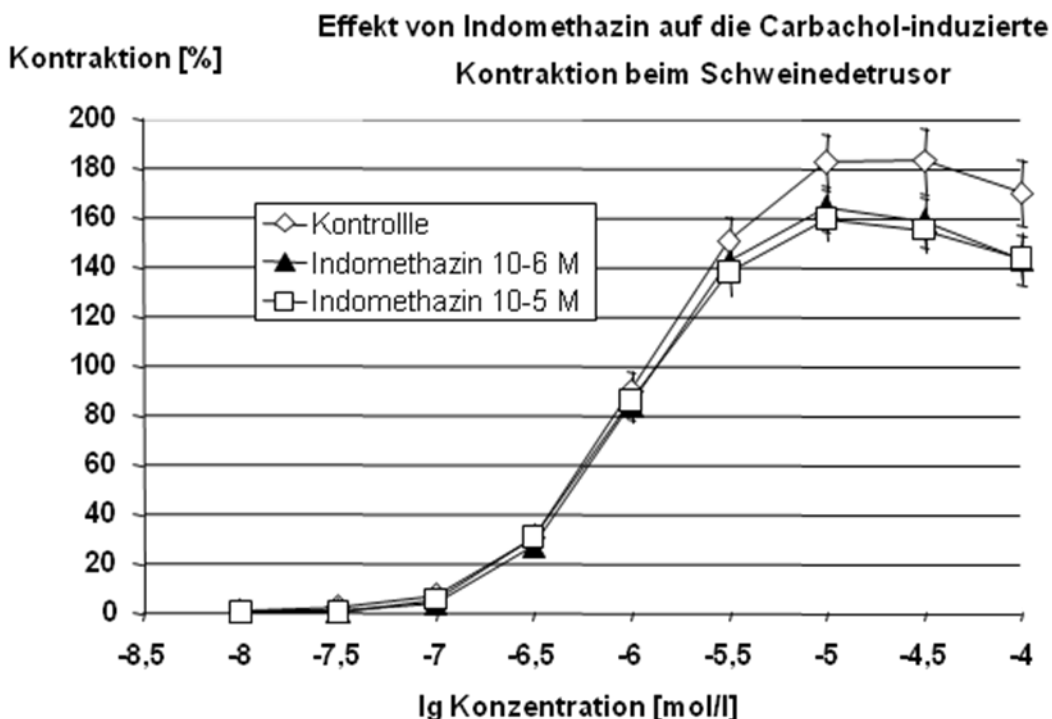


Abbildung 10: (Badawi et al., 2008): Effekt von Indomethazin auf die Carbachol-induzierte Kontraktionswirkungskurve

### 3.5.3 Wirkung des Phospholipase C-Inhibitors U73122 in einer Konzentration von $10^{-5,5}$ M auf die Konzentrations-Wirkungskurve von Carbachol

In den Experimenten mit U73122 als Vorbehandlung (n=15-18, N=10) im Vergleich mit der Kontrollgruppe (n=13-14, N=10) ließ sich eine signifikante Veränderung der konzentrationsabhängigen Carbachol-induzierten Kontraktionskurve nachweisen, und zwar für alle Konzentrationen zwischen  $10^{-6,5}$  M und  $10^{-4}$  M. In dieser Versuchsanordnung wurde die mit hochmolarer Kaliumlösung (124 mM) induzierte Vorkontraktion als 100 % gesetzt. Alle folgenden Carbacholkontraktionen beziehen sich als %-Angabe auf diese Kalium-induzierte Vorkontraktion. Die mittlere maximale Carbachol-induzierte Kontraktion war  $141,8 \pm 6,8$  % (n=16, N=10) nach Inkubation mit U73122 und  $166,0 \pm 6,4$  % (n=13, N=10) in der vergleichbaren Kontrollgruppe, und zeigte somit einen signifikanten ( $p < 0,05$ ) relaxierenden Effekt (s. Abbildung 11).

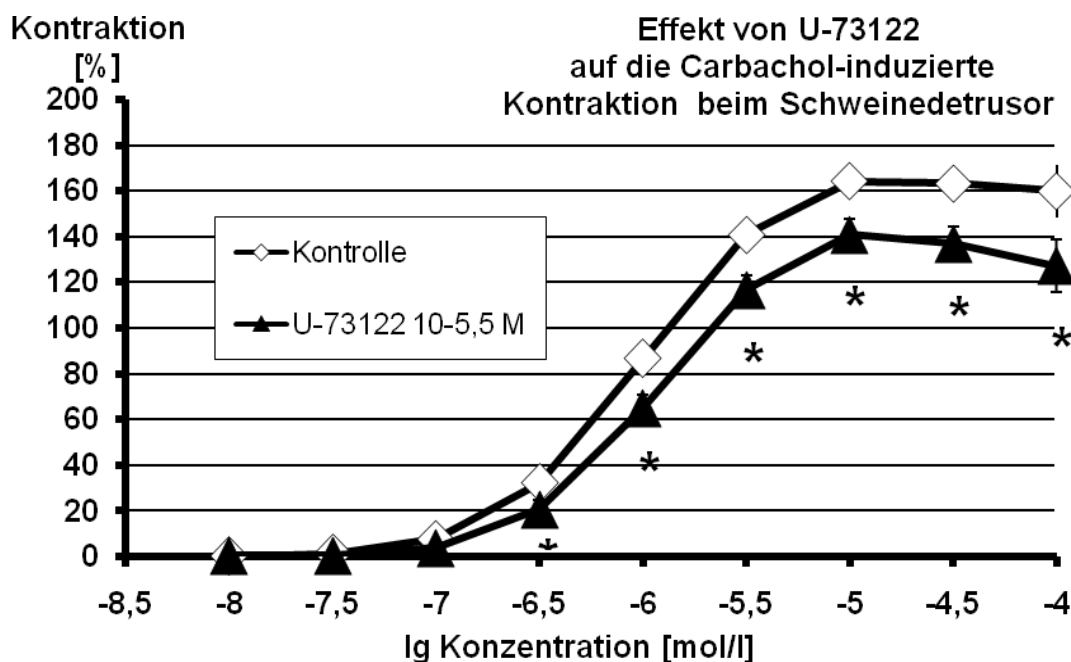


Abbildung 11: (Badawi et al., 2008): Effekt von U73122 auf die Carbachol-induzierte Kontraktionswirkungskurve

\*: signifikante Veränderung durch getestete Substanz im Vergleich zur Kontrolle ( $p < 0,05$ )  
Signifikanter inhibitorischer Effekt von U73122 auf die Carbachol-induzierte Kontraktion bei Konzentrationen von  $10^{-6,5}$  M bis  $10^{-4}$  M.

## 4 DISKUSSION

### 4.1 Wissenschaftliche Studien zu $\beta$ -Adrenorezeptoren der Harnblase unter Einbeziehung eigener Erkenntnisse

#### 4.1.1 Studien zu $\beta$ -Adrenorezeptoren in der humanen Harnblase

Schon in den 1970er Jahren wurde von zahlreichen Arbeitsgruppen die Verteilung und Rolle verschiedener Rezeptortypen in der menschlichen Harnblase beschrieben.

Nergård et al. (1977) zeigten am humanen Detrusor (N=9) eine konzentrationsabhängige Relaxationswirkungskurve durch selektive und unselektive  $\beta$ -Adrenorezeptor-Agonisten in Konzentrationen von 0,05  $\mu\text{g/ml}$ , 0,15  $\mu\text{g/ml}$ , 0,5  $\mu\text{g/ml}$  und 1,5  $\mu\text{g/ml}$  nach einer Acetylcholin-induzierten Kontraktion (Bad-Konzentration 5-15  $\mu\text{g/ml}$ ). Die jeweils angegebenen Relaxationswerte der einzelnen Substanzen wurden in ein prozentuales Verhältnis zur vorherigen Acetylcholin-induzierten Kontraktion gesetzt.

Der unselektive  $\beta$ -Adrenorezeptor-Agonist Isoprenalin (n=17 für alle Konzentrationen außer der höchsten Konzentration 1,5  $\mu\text{g/ml}$ , dort n=10) relaxierte in Konzentrationen von 0,05  $\mu\text{g/ml}$  bis 1,5  $\mu\text{g/ml}$ , die maximale Relaxation wurde für die höchste Konzentration (1,5  $\mu\text{g/ml}$ ) mit  $79 \pm 4,1\%$  gezeigt.

Für den  $\beta_1$ -Adrenorezeptor-Agonisten Noradrenalin (n=4 für alle Konzentrationen) konnte eine maximale Relaxation von  $37 \pm 9,2\%$  in der höchsten Konzentration (1,5  $\mu\text{g/ml}$ ) ermittelt werden.

Der selektive  $\beta_1$ -Adrenorezeptor-Agonist H80/62 (n=1 für 0,05  $\mu\text{g/ml}$ , n=3 für die sonstigen Konzentrationen) relaxierte mit einem maximalen Wert von  $37 \pm 4,4\%$  ebenfalls in der höchsten Konzentration (1,5  $\mu\text{g/ml}$ ).

Der selektive  $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Agonist Salbutamol (n=5 für 0,05  $\mu\text{g/ml}$ , n=7 für die sonstigen Konzentrationen) zeigte eine maximale Relaxation mit  $35 \pm 3,3\%$  (für 1,5  $\mu\text{g/ml}$ ). Weiterhin ließ sich nach Einwirkung des unselektiven  $\beta$ -Adrenorezeptor-Antagonisten Propranolol in einer Konzentration von 0,05  $\mu\text{g/ml}$  eine deutliche Reduktion der Isoprenalin-induzierten konzentrationsabhängigen Relaxationswirkungskurve darstellen. Die maximale Relaxation durch Isoprenalin (0,5  $\mu\text{g/ml}$ , n=4) wurde dabei mit  $37 \pm 0,8\%$  ermittelt.

Dagegen zeigte sich nach Einwirkung des selektiven  $\beta_1$ -Adrenorezeptor-Antagonisten Practolol (1,5  $\mu\text{g/ml}$ ) eine maximale Relaxation durch Isoprenalin (in einer Konzentration von 0,5  $\mu\text{g/ml}$ , n=4) mit  $64 \pm 6,5\%$ .

Nach Einwirkung des selektiven  $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Antagonisten Butoxamin (1,5  $\mu\text{g/ml}$ ) wurde eine maximale Relaxation durch Isoprenalin (in einer Konzentration von 1,5  $\mu\text{g/ml}$ , n=5) mit  $80 \pm 1,7\%$  ermittelt.

In der Kontrolle (ohne Einwirkung eines Antagonisten) zeigte sich eine maximale Relaxation durch Isoprenalin (in einer Konzentration von 1,5  $\mu\text{g/ml}$ , n=4) von  $87 \pm 4,8\%$  (Nergård et al., 1977).

Larsen überprüfte in Relaxationsexperimenten den Einfluss von  $\beta$ -Adrenorezeptoren an der humanen Harnblase (Larsen, 1979).

Der unspezifische  $\beta$ -Agonist Isoprenalin relaxierte konzentrationsabhängig beim Menschen mit maximal 80% der Ausgangsspannung einer Carbachol-induzierten Kontraktionswirkkurve, der  $\beta_2$ -Agonist Salbutamol mit maximal 63% (Larsen, 1979).

Weiterhin ließ sich mit dem unselektiven  $\beta$ -Adrenorezeptor-Antagonisten Propranolol in einer Konzentration von  $10^{-7}$  M eine signifikante Rechtsverschiebung und somit Hemmung einer Isoprenalin-induzierten Relaxation zeigen (Larsen, 1979).

Sowohl der selektive  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Antagonist Practolol als auch der spezifische  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Antagonist Butoxamin zeigten jeweils in einer Konzentration von  $10^{-5}$  M keinen Effekt auf die Isoprenalin-induzierte Konzentrationswirkungskurve (Larsen, 1979).

Igawa et al. (1999) demonstrierten in einer Veröffentlichung eine konzentrationsabhängige Relaxation am humanen Detrusormuskel, die Reihenfolge der relaxierenden Potenzen wurde mit Isoprenalin  $\geq$  Noradrenalin  $\geq$  Adrenalin angegeben, die  $pD_2$ -Werte betragen dabei  $6,37 \pm 0,07 \geq 6,07 \pm 0,12 \geq 5,88 \pm 0,11$ . Es zeigte sich somit kein signifikanter Unterschied zwischen den  $pD_2$ -Werten von Noradrenalin und Adrenalin.

Auch unsere Daten ergaben keinen signifikanten Unterschied.

Von den beiden getesteten Agonisten Dobutamin (selektiver Agonist für  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ -Adrenorezeptoren) sowie Procaterol (selektiver  $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Agonist) zeigte keiner eine signifikante Relaxation bis zu einer Konzentration von  $10^{-5}$  M. In Konzentrationen von  $10^{-4}$  M zeigten beide einen relaxierenden Effekt mit  $46,2 \pm 3,4$  % für Dobutamin, bzw.  $34,2 \pm 5,2$  % für Procaterol, bezogen jeweils auf eine durch Forskolin ( $10^{-5}$  M)-induzierte Relaxation (Igawa et al., 1999).

Weiterhin konnte mit den beiden selektiven  $\beta_3$ -Adrenorezeptor-Agonisten BRL 37344A und CL316243 sowie dem selektiven  $\beta_3$ -Adrenorezeptor-Agonisten CGP-12177A eine Relaxation ab Konzentrationen größer  $10^{-6}$  M gezeigt werden.

Die  $pD_2$ -Werte betragen dabei  $6,42 \pm 0,25$  für BRL 37344A,  $5,53 \pm 0,09$  für CL316243 und  $5,74 \pm 0,14$  für CGP-12177A (Igawa et al., 1999).

Die maximale Relaxation, erreicht in einer Konzentration von  $10^{-4}$  M, betrug jeweils für BRL 37344A  $47,4 \pm 4,5$  %,  $43,7 \pm 6,4$  % für CL316243 sowie  $33,3 \pm 4,2$  % für CGP-12177A.

Bei unseren Versuchsreihen zeigten sich vergleichbare Werte für den maximalen relaxierenden Effekt:  $36,25 \pm 3,99$  % für BRL 37344 und  $36,97 \pm 5,87$  % für CGP 12177.

Es wurden weiterhin Antagonistenversuche durchgeführt: der selektive  $\beta_1$ -Adrenorezeptor-Antagonist CGP-20712A zeigte allein keinen Einfluß in Konzentrationen von  $10^{-7}$  M bis  $10^{-5}$  M. ICI 118,551, ein selektiver  $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Antagonist, zeigte ab einer Konzentration von  $10^{-5}$  M einen Einfluß und Hemmung der Isoprenalin-induzierten Relaxationswirkungskurve.

Weiterhin kam es in Anwesenheit des  $\beta_1$ -Adrenorezeptor-Antagonisten CGP-12177A sowie des selektiven  $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Antagonisten ICI 118,551 (jeweils in einer Konzentration von  $10^{-7}$  M) durch die Zugabe des selektiven  $\beta_3$ -Adrenorezeptor-Antagonisten SR58894A (in Konzentrationen von  $10^{-7}$  M bis  $10^{-5}$  M) zu einer konzentrationsabhängigen Hemmung der Isoprenalin-induzierten Relaxationswirkungskurve (Igawa et al., 1999).

Yamanishi et al. (2006) zeigte am humanen Detrusor eine konzentrationsabhängige Relaxation durch den unselektiven  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten Isoprenalin (N=n=5), der  $pD_2$ -Wert konnte mit  $6,76 \pm 0,17$  ermittelt werden. Die maximale Kontraktion (im Vergleich zu  $10^{-5}$  M Forskolin) betrug  $88,9 \pm 3,2$  %.

Weiterhin relaxierten die  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Agonisten 138-355 (N=n=8) und BRL 37344 (N=n=7) mit mittleren  $pD_2$ -Werten von  $5,80 \pm 0,26$  und  $5,90 \pm 0,29$ . Dabei wurden maximale Relaxationswerte für 138-355 (für  $10^{-4}$  M) mit  $81,9 \pm 3,0$  % sowie  $62,5 \pm 5,6$  % für BRL 37344 (für  $10^{-5}$  M) ermittelt.

Für den  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonisten Clenbuterol (N=n=7) zeigte sich ein  $pD_2$ -Wert von  $5,23 \pm 0,22$ , die maximale Relaxation betrug  $54,6 \pm 4,7$  %.

Die Daten sind nicht ganz mit den unseren vergleichbar, da Yamanishi et al. (2006) keine aktive, pharmakologische Kontraktion durchführten, sondern lediglich zu Beginn der Versuche eine passive, mechanische Muskelvorspannung vor den Versuchen durchführten.

Otsuka et al. untersuchten 2008 mittels in-vitro-Studien den relaxierenden Einfluss von Isoproterenol, einem unselektiven  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten sowie der beiden selektiven  $\beta_3$ -AR-Agonisten AJ-9677 und CL 316,243 am isolierten Detrusor des Menschen.

Der  $\beta_3$ -AR-Agonist AJ-9677 (n=3) relaxierte dabei mit einer maximalen Relaxation von  $87,5 \pm 5,5$  % annähernd gleich gut wie Isoproterenol (n=4), welches eine maximale Relaxation von  $88,4 \pm 5,1$  % erreichte. Die Prozentangaben wurden ins Verhältnis zu einer Schlußrelaxation mit Forskolin ( $10^{-5}$  M) als Referenzsubstanz gesetzt (Otsuka et al., 2008).

Dagegen erreichte die Relaxation mit dem  $\beta_3$ -AR-Agonisten CL 316,243 (n=4) nur einen maximalen Wert von  $49,9 \pm 5,0$  % (Otsuka et al., 2008).

Der  $pD_2$ -Wert wurde für Isoproterenol mit  $6,85 \pm 0,35$  ermittelt, für AJ-9677 mit  $6,70 \pm 0,39$  (Otsuka et al., 2008).

Die Daten sind nicht ganz mit den unseren vergleichbar, da Otsuka et al. keine pharmakologische aktive Kontraktion durchführten, sondern lediglich zu Beginn der Versuche eine passive, mechanische Muskelvorspannung vor den Versuchen durchführten.

Die Vorspannung betrug im Gegensatz zu Yamanishi et al. (2006) nur 0,5 g.

Igawa et al. (2012) zeigten am humanen Musculus detrusor eine konzentrationsabhängige Relaxation durch den unselektiven  $\beta$ -AR-Agonisten Isoprenalin (n=6), den selektiven  $\beta_3$ -AR-Agonisten KUC-7322 (n=7) und BRL 37344 (n=4) sowie dem selektiven  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonisten Clenbuterol (n=5). Die Muskelstreifen wurden vorab einer mechanischen Vorspannung mit 10 mNewton unterzogen (Igawa et al., 2012). Hierbei zeigte sich für Isoproterenol ein maximaler Relaxationseffekt von  $87 \pm 4$  % (bezogen auf eine Schlussrelaxation mit  $10^{-5}$  M Forskolin), für KUC-7322, BRL 37344 sowie Clenbuterol betragen die Werte  $87 \pm 2$  %,  $61 \pm 10$  % sowie  $52 \pm 15$  %. Der  $pD_2$ -Wert ließ sich dabei für Isoproterenol, KUC-7322, BRL 37344 und Clenbuterol mit  $6,66 \pm 0,19$ ,  $5,95 \pm 0,09$ ,  $6,83 \pm 0,12$  und  $5,19 \pm 0,42$  ermitteln (Igawa et al., 2012).

#### **4.1.2 Studien zu $\beta$ -Adrenozeptoren der Harnblase beim Schwein**

Larsen (1979) zeigte in konzentrationsabhängigen Wirkungskurven (von  $10^{-9}$  M bis  $10^{-5}$  M) eine dosisabhängige Relaxation nach Zugabe des unselektiven  $\beta$ -AR-Agonisten Isoprenalin, der  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonisten Salbutamol und Ritodrin sowie dem  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten Noradrenalin.

Die relaxierende Potenz des unselektiven  $\beta$ -Agonisten Isoprenalin wurde dabei vierfach höher im Vergleich zu den  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonisten Salbutamol und Ritodrin beziehungsweise dreißig Mal höher im Vergleich zu Noradrenalin angegeben.

Die genauen  $pD_2$ -Werte sind in der Publikation für keine der Substanzen angegeben, aus der Grafik lässt sich der  $pD_2$ -Wert für Salbutamol mit  $< 7$  ersehen.

Jeder Agonist relaxierte in der höchsten Konzentration zu 100 %.

An einer Noradrenalin-induzierten Konzentrationswirkungskurve ließ sich eine signifikante Rechtsverschiebung durch den unselektiven  $\beta$ -Antagonisten Propranolol ( $10^{-7}$  M) in allen Konzentrationen (Noradrenalin) zeigen, während der  $\alpha$ -Antagonist Phentolamin ( $10^{-5}$  M) bei keiner Konzentration einen signifikanten Effekt aufwies (Larsen, 1979).

An einer Isoprenalin-induzierten Konzentrationswirkungskurve konnte durch den unselektiven  $\beta$ -Antagonisten Propranolol (in den Konzentrationen  $10^{-9}$  M,  $10^{-8}$  M,  $10^{-7}$  M) oder den spezifischen  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten Butoxamin (in den Konzentrationen

$10^{-7}$  M,  $10^{-6}$  M,  $10^{-5}$  M) eine von der jeweiligen Konzentration abhängige Rechtsverschiebung gezeigt werden.

Bei der niedrigsten Konzentration ergab sich für beide Substanzen Propranolol ( $10^{-9}$  M) und Butoxamin ( $10^{-7}$  M) bereits ein Effekt, welcher jedoch erst ab der mittleren Konzentration für beide Substanzen (Propranolol mit  $10^{-8}$  M und Butoxamin mit  $10^{-6}$  M) signifikant war (Larsen, 1979).

Weiterhin zeigte sich für den selektiven  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Antagonisten Practolol kein Effekt bei der Isoprenalin-induzierten Konzentrationswirkungskurve (Larsen, 1979).

Yamanishi untersuchte mittels in-vitro-Versuchen verschiedene  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten und -Antagonisten im Hinblick auf eine konzentrationsabhängige Relaxation auf eine zuvor durch K 50 mM-induzierte Kontraktion am Schweine-Detrusor (Blasendach) (Yamanishi et al., 2002).

Der unselektive  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonist Isoprenalin relaxierte mit einem  $pD_2$ -Wert von  $7,7 \pm 0,02$ , Noradrenalin mit einem  $pD_2$ -Wert von  $5,8 \pm 0,05$ , der  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonist Salbutamol mit  $7,2 \pm 0,03$ . Für die  $\beta_3$ -AR-Partialagonisten CGP 20712A (n=4) und BRL 37344 (n=7) ergaben sich  $pD_2$ -Werte von  $4,0 \pm 0,12$  und  $6,9 \pm 0,24$ .

Die maximale Relaxation der einzelnen Substanzen wurde in das prozentuale Verhältnis zu einer durch Isoprenalin ( $30 \mu\text{M}$ ) induzierten maximalen Relaxation gesetzt.

Der unselektive  $\beta$ -Adrenozeptor-Antagonist Propranolol antagonisierte Isoprenalin-induzierte Konzentrationswirkungskurven mit einem  $pK_B$ -Wert von  $9,3 \pm 0,12$ . Der selektive  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Antagonist Atenolol zeigte hier einen  $pK_B$ -Wert von  $6,1 \pm 0,08$ , während der ebenso selektive  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Antagonist CGP20712A bei Konzentrationen  $< 3 \times 10^{-5}$  M keinen Effekt diesbezüglich zeigte (Yamanishi et al., 2002).

Der selektive  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Antagonist ICI 118551 antagonisierte eine Isoprenalin-induzierte Relaxations-Wirkungskurve mit einem  $pK_B$ -Wert von  $7,8 \pm 0,09$ , in Konzentrationen von  $30 \text{ nM}$  bis  $1 \times 10^{-6}$  M.

In Anwesenheit des  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Antagonisten CGP20712A ( $1 \mu\text{M}$ ) zeigte sich für ICI 118551 ein  $pK_B$ -Wert von  $8,4 \pm 0,21$ , in Anwesenheit des  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten Salbutamol ein  $pK_B$ -Wert von  $8,7 \pm 0,08$ .

Der selektive  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Antagonist SR59223A zeigte in demselben Versuchsaufbau auf eine Isoprenalin-induzierte Relaxations-Wirkungskurve einen  $pK_B$ -Wert von  $8,6 \pm 0,06$  (in Konzentrationen von  $3\text{-}10 \text{ nM}$ ), für höhere Konzentrationen ( $30 \text{ nM}$  bis  $1 \mu\text{M}$ ) wurde der  $pK_B$ -Wert mit  $7,7 \pm 0,10$  ermittelt (Yamanishi et al., 2002).

Masanuga untersuchte 2010 am Blasendach des Schweine-Detrusors verschiedene selektive  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten (Salbutamol, Dobutamin, BRL 37344) sowie den unselektiven  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten Isoprenalin im Hinblick auf eine mögliche Relaxierung anhand Konzentrationswirkungskurven (Masanuga et al., 2010).

Die initiale Kontraktion mit Carbachol wurde für Muskelstreifen mit Mukosa in einer Konzentration von  $3 \mu\text{M}$ , bei Streifen ohne Mukosa mit einer Konzentration von  $1 \mu\text{M}$  durchgeführt.

Bei Streifen ohne Mukosa (und Serosa) ergab sich für den unselektiven  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten Isoprenalin (n=6) ein  $pD_2$ -Wert von  $7,05 \pm 0,11$ , für den  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonisten Salbutamol (n=7) von  $6,63 \pm 0,27$  und für den  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Agonisten BRL 37344 (n=6) ein  $pD_2$ -Wert von  $4,43 \pm 0,12$ .

Dobutamin als  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Agonist zeigte unterhalb einer Konzentration von  $10^{-5}$  M keinen relaxierenden Effekt (Masanuga et al., 2010).



### 4.1.3 Studien zu $\beta$ -Adrenorezeptoren weiterer Spezies

In einer in-vivo-Studie an der Ratten-Harnblase zeigte Elmér (1974) eine signifikante Senkung des Blasendrucks durch den unspezifischen  $\beta$ -Adrenorezeptor-Agonisten Isoprenalin (n=13) in einer Konzentration von 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , die  $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Agonisten Terbutalin (n=7) in einer Konzentration von 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  und Salbutamol (n=5) in einer Konzentration von 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , sowie durch den Adrenorezeptor-Agonisten Noradrenalin (n=8) in einer Konzentration von 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

Die Effekte von Isoprenalin, Terbutalin und Salbutamol wurden durch die  $\beta_1$ -Adrenorezeptor-Antagonisten Practolol und H93/26 in initialen Einwirkkonzentrationen von 1-50 mg/kg bzw. 1-10 mg/kg beeinflusst. Bei höheren Konzentrationen der Antagonisten (Practolol mit 100 mg/kg; H93/26 mit 50-100 mg/kg) ließen sich die Agonisteneffekte reduzieren, jedoch nicht komplett unterdrücken.

Die Effekte von Isoprenalin, Terbutalin und Salbutamol ließen sich durch Einwirkung des unselektiven  $\beta$ -Adrenorezeptor-Antagonisten Propranolol und des  $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Antagonisten H35/25 komplett unterdrücken (Elmér, 1974).

Nergård et al. (1977) führten in-vitro-Untersuchungen an der Katzen-Harnblase (N=7) mittels konzentrationsabhängigen Relaxationswirkungskurven von selektiven und unselektiven  $\beta$ -Adrenorezeptor-Agonisten in Konzentrationen von 0,05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 0,15  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 0,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  und 1,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  durch.

Für den unselektiven  $\beta$ -Agonisten Isoprenalin (n=22 bzw. n=8 für 1,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) zeigte sich eine maximale Relaxation von  $72 \pm 1,4$  % für die höchste Konzentration (1,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) nach einer Acetylcholin-induzierten Kontraktion.

Der  $\beta$ -Agonist Noradrenalin (n=16 bzw. n=14 für 1,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) relaxierte in Konzentrationen von 0,05  $\mu\text{g}/\text{ml}$  bis 1,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , die maximale Relaxation wurde für die höchste Konzentration (1,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) mit  $65 \pm 3,3$  % gezeigt.

Der selektive  $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Agonist Salbutamol (n=14 bzw. n=13 für 1,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) zeigte kaum einen Effekt mit einer maximalen Relaxation von  $11 \pm 2,0$  % (Konzentration 1,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ).

Die Ergebnisse für Noradrenalin und Isoprenalin waren statistisch signifikant, für Salbutamol nicht (Nergård et al., 1977).

Weiterhin zeigte sich nach Einwirkung des selektiven  $\beta_1$ -Adrenorezeptor-Antagonisten Practolol (in Einwirkkonzentrationen von 0,05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 0,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  und 1,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) eine statistisch signifikante Reduktion der Isoprenalin-induzierten konzentrationsabhängigen Relaxationswirkungskurve. Die maximale Relaxation durch Isoprenalin (0,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) wurde unter Practolol (Einwirkkonzentration 1,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) mit  $46 \pm 3,1$  % ermittelt.

Nach Einwirkung des selektiven  $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Antagonisten Butoxamin konnte für keine der drei Einwirkkonzentrationen 0,05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 0,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  und 1,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  eine Reduktion der Isoprenalin-induzierten Konzentrationswirkungskurve gezeigt werden (Nergård et al., 1977).

Morita et al. (1990) zeigten mittels in-vitro-Versuchen an der Hasen-Harnblase eine konzentrationsabhängige Abnahme einer mechanischen Vorspannung durch den unselektiven  $\beta$ -Adrenorezeptor-Agonisten Isoproterenol ( $10^{-7}$  M bis  $10^{-5}$  M, n=5) (Morita et al., 1990).

Eine Vorbehandlung mit dem selektiven  $\beta_1$ -Adrenorezeptor-Antagonisten Metoprolol (in Konzentrationen von  $10^{-6}$  M bis  $10^{-4}$  M, n=3) zeigte keinen signifikanten Einfluss auf einen Isoproterenol ( $10^{-6}$  M)-induzierten Effekt.

Der selektive  $\beta_2$ -Adrenorezeptor-Antagonist Butoxamin zeigte in einer Einwirkkonzentration  $<10^{-5}$  M eine teilweise Hemmung eines Isoproterenol- ( $10^{-6}$  M, n=2) induzierten Effekts auf den Hasen-Detrusor. In einer Konzentration von  $10^{-4}$  M zeigten Butoxamin (n=3) sowie der unselektive  $\beta$ -Adrenorezeptor-Antagonist Propranolol (n=3) in einer Konzentration von  $10^{-6}$  M

eine komplette Blockade einer Isoproterenol-( $10^{-6}$  M) induzierten Relaxation (Morita et al., 1990).

Li et al. (1992) zeigten am Meerschweinchen nach Vorspannung (2 g) und Vorkontraktion mit Kalium 20 mM eine konzentrationsabhängige Relaxation durch den unselektiven  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten Isoproterenol (in aufsteigenden Konzentrationen von  $3 \times 10^{-8}$  M bis  $3 \times 10^{-5}$  M, n=12), das Maximum einer Relaxation wurde mit ca 73% der Ausgangskonzentration in der höchsten Konzentration ( $3 \times 10^{-5}$  M) erreicht.

Die beiden selektiven  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonisten Salbutamol (n=4) und Terbutalin (n=4) relaxierten konzentrationsabhängig (Konzentrationen von  $3 \times 10^{-8}$  M bis  $3 \times 10^{-5}$  M) mit einer deutlich niedrigeren Effektivität im Vergleich zu Isoproterenol (Li et al., 1992).

Eine durch Isoproterenol-induzierte Relaxation ( $3 \times 10^{-5}$  M) wurde durch den unselektiven  $\beta$ -Adrenozeptor-Antagonisten Nadolol in einer Konzentration von  $10^{-6}$  M komplett antagonisiert.

Nach Einwirkung des  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Antagonisten Metoprolol in Konzentrationen von  $10^{-6}$  M,  $10^{-5}$  M und  $10^{-4}$  M relaxierte Isoproterenol ( $3 \times 10^{-5}$  M) mit 39 %, 24 % und 26 %.

Nach Einwirkung des  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten ICI118551 in Konzentrationen von  $10^{-6}$  M bzw.  $10^{-5}$  M relaxierte Isoproterenol ( $3 \times 10^{-5}$  M) mit 58 % bzw. 54 % (Li et al., 1992).

Yamamoto wies mittels in-vitro-Studien am Meerschweinchen-Detrusor die Reihenfolge der relaxierenden Potenz für Katecholamine mit Isoprenalin (n=7) > Norepinephrin (n=7) > Epinephrin (n=7) aus, die  $pD_2$ -Werte der Konzentrationswirkkurven wurden mit 7,38 > 6,71 > 6,31 angegeben (Yamamoto et al., 1998).

Auch der  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Agonist Dobutamin (n=6) reduzierte konzentrationsabhängig die Muskeleigenaktivität nach passiver Vorspannung, der  $pD_2$ -Wert lag bei 5,81.

Die selektiven  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonisten Clenbuterol (n=6) und Salbutamol (n=6) sowie die  $\beta_3$ -spezifischen Adrenozeptor-Agonisten CGP12177 (n=6) und BRL37344 (n=6) zeigten keinen Effekt in einer Konzentration von  $10^{-5}$  M.

Der selektive  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Antagonist Atenolol zeigte an den Konzentrationswirkkurven der drei Katecholamine Isoprenalin, Norepinephrin, Epinephrin einen antagonisierenden Effekt (in Konzentrationen  $10^{-6}$  M,  $3 \times 10^{-6}$  M,  $10^{-5}$  M und  $3 \times 10^{-5}$  M) (Yamamoto et al., 1998). Durch den selektiven  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten Butoxamin ( $10^{-5}$  M) liess sich keine Rechtsverschiebung an der Isoprenalin-induzierten Konzentrationswirkkurve zeigen.

Weiterhin zeigte der  $\beta$ -Adrenozeptor-Antagonist Bupranolol (in einer Konzentration von  $3 \times 10^{-5}$  M) in Anwesenheit des  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten Propranolol ( $10^{-6}$  M) eine Rechtsverschiebung einer Isoprenalin-induzierten Konzentrationswirkkurve mit einem  $pK_B$ -Wert von 5,50 (Yamamoto et al., 1998).

Takeda et al. (2000) zeigten nach passiver Vorspannung am Detrusor des Frettchens eine konzentrationsabhängige Relaxationswirkungskurve verschiedener  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten. Hierbei wurde die maximale Relaxation von  $98,9 \pm 1,1$  % im Vergleich zu einer durch Forskolin ( $10^{-5}$  M)-induzierten Relaxation mit dem unselektiven  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten Isoprenalin erreicht (Takeda et al., 2000).

Die  $pD_2$ -Werte wurden für Isoprenalin (n=8), den selektiven  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Agonisten Dobutamin (n=9), den selektiven  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonisten Procaterol (n=8) und die selektiven  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Agonisten CL 316,243 (n=6), BRL 37344 (n=6) und CGP 12177A (n=6) mit  $7,07 \pm 0,29$ ,  $6,47 \pm 0,28$ ,  $6,42 \pm 0,18$ ,  $7,79 \pm 0,29$ ,  $8,72 \pm 0,23$  und  $7,74 \pm 0,08$  ermittelt.

Die Reihenfolge der relaxierenden Potenz wurde mit BRL 37344A > CGP 12177A, Isoprenalin, CL 316,243 > Dobutamin und Procaterol angegeben.

Weiterhin zeigte sich in Antagonisten-Experimenten ein leichter Effekt des selektiven  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Antagonisten CGP 20712A (von  $10^{-9}$  M bis  $10^{-6}$  M) auf die Isoprenalin-induzierte Konzentrationswirkkurve, während sich beim selektiven  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten ICI-118,551 (von  $10^{-9}$  M bis  $10^{-6}$  M) kein Effekt darstellen ließ.

In Anwesenheit von CGP 20712A und ICI-118,551 (in jeweils einer Konzentration von  $10^{-7}$  M) zeigte der selektive  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Antagonist SR58894A einen Effekt im Sinne einer Rechtsverschiebung auf die Isoprenalin-induzierte Konzentrationswirkkurve (Takeda et al., 2000).

Oshita et al. (1997) untersuchten in-vitro am Ratten- und Hasen-Detrusor Konzentrationswirkkurven verschiedener  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten und -Antagonisten nach Vorspannung (Ratte 0,5 g, Hase 1,0 g) und Vorkontraktion mit Kalium 50 mM.

Bei der Rattenharnblase relaxierten der selektive  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Agonist BRL 37344 (n=7) sowie die Katecholamine Isoprenalin (n=9), Adrenalin (n=7) und Noradrenalin (n=7) mit  $pD_2$ -Werten von  $8,0 \pm 0,09$ ,  $7,3 \pm 0,10$ ,  $6,7 \pm 0,11$  und  $6,6 \pm 0,05$ .

Beim Hasen-Detrusor wurden für den selektiven  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Agonisten BRL 37344 (n=6) sowie die Katecholamine Isoprenalin (n=10), Adrenalin (n=7) und Noradrenalin (n=7)  $pD_2$ -Werte von  $7,4 \pm 0,07$ ,  $8,7 \pm 0,11$ ,  $8,5 \pm 0,13$  und  $7,7 \pm 0,12$  ermittelt.

In Antagonisten-Experimenten mittels Vorwirkung von Propranolol und ICI 118,551 an der Isoprenalin-induzierten Konzentrationswirkkurve bei der Ratte wurde für den unselektiven  $\beta$ -Adrenozeptor-Antagonisten Propranolol (n=10, Konzentrationen 1 und 10  $\mu$ M) ein  $pK_B$ -Wert von  $6,6 \pm 0,06$  errechnet. Für den selektiven  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten ICI 118,551 (n=5, Konzentration 10  $\mu$ M) ergab sich ein  $pK_B$ -Wert von  $5,4 \pm 0,08$  (Oshita et al., 1997).

Yamazaki et al. (1998) führten in vitro-Versuchsreihen an der Harnblase von Hase, Ratte und Hund mittels Konzentrationswirkkurven (n=5-7) durch.

Beim Hasen-Detrusor wurde die Reihenfolge der relaxierenden Potenz für Katecholamine nach Vorspannung (5 mN) mit Isoprenalin > Adrenalin > Noradrenalin ermittelt, die  $pD_2$ -Werte mit  $9,05$  (8,81-9,30) >  $8,34$  (7,98-8,70) >  $6,80$  (6,53-7,07).

Bei der Ratte zeigte sich dieselbe Reihenfolge, die  $pD_2$ -Werte mit  $8,28$  (7,96-8,60) >  $6,93$  (6,65-7,22) >  $6,42$  (6,04-6,81).

Im Gegensatz dazu war die Reihenfolge beim Hund (Vorspannung hier 7 mN) Isoprenalin > Noradrenalin > Adrenalin, die  $pD_2$ -Werte mit  $6,97$  (6,56-7,37) >  $6,07$  (5,49-6,65) >  $5,59$  (4,90-6,28) (Yamazaki et al., 1998).

Die hier ermittelten Reihenfolgen könnten beim Hasen und der Ratte eher auf den  $\beta_2$ -Adrenozeptor, beim Hund eher auf einen  $\beta_1/\beta_3$ -Adrenozeptor als den vorherrschenden Subtyp schliessen.

Weiterhin zeigte sich in Konzentrationswirkkurven für den selektiven  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Agonisten Dobutamin beim Hasen-Detrusor ein  $pD_2$ -Wert von  $6,64$  (6,20-7,07), bei der Ratte  $4,97$  (4,74-5,20) und beim Hund ein  $pD_2$ -Wert von  $5,84$  (5,50-6,19).

Für den selektiven  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonisten Procaterol wurde beim Hasen-Detrusor ein  $pD_2$ -Wert von  $9,46$  (9,14-9,77), bei der Ratte  $7,95$  (7,46-8,44) und beim Hund ein  $pD_2$ -Wert von  $5,77$  (5,57-5,97) ermittelt.

Der selektive  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Agonist CGP-12177A zeigte folgende Ergebnisse:  $pD_2$ -Wert beim Hasen-Detrusor  $8,19$  (7,86-8,53), bei der Ratte  $6,69$  (6,19-7,20), beim Hund  $6,86$  (6,34-7,37).

Für den selektiven  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Agonisten CL316243 wurden die  $pD_2$ -Werte beim Hasen-Detrusor, der Ratte und dem Hund mit  $5,04$  (4,59-5,49),  $8,18$  (7,95-8,41) und  $8,03$  (7,59-8,46) angegeben.

In Antagonistenexperimenten zeigte sich für den selektiven  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Antagonisten CGP-20712A nur beim Hund eine Rechtsverschiebung der Isoprenalin-induzierten Konzentrationswirkungskurve in den zwei Konzentrationen  $10^{-9}$  M und  $3 \times 10^{-9}$  M.

Bei Einwirkung des selektiven  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten ICI-118,551 ( $10^{-9}$  M bis  $10^{-7}$  M) zeigte sich beim Hasen-Detrusor eine Rechtsverschiebung der Isoprenalin-induzierten Konzentrationswirkungskurve.

Beim Ratten-Detrusor ergab sich für ICI-118,551 ( $10^{-9}$  M bis  $10^{-7}$  M) eine geringere Rechtsverschiebung.

Bei der Spezies Hund zeigte ICI-118,551 keinen Effekt.

Für den unselektiven  $\beta$ -Adrenozeptor-Antagonisten Bupranolol ( $10^{-9}$  M bis  $10^{-5}$  M) zeigte sich beim Hasen und bei der Ratte eine Rechtsverschiebung der Isoprenalin-induzierten Konzentrationswirkungskurve.

Beim Hunde-Detrusor zeigte sich ein Effekt erst ab Bupranolol-Konzentrationen  $> 10^{-8}$  M (Yamazaki et al., 1998).

Longhurst zeigte mittels in-vitro-Versuchen das Vorhandensein von  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ - und  $\beta_3$ -Adrenorezeptoren in der Ratten-Harnblase; alle drei Rezeptortypen schienen eine Rolle bei der Relaxation der Harnblase zu spielen (Longhurst et al., 1999).

Takeda et al. (2002) ermittelten in-vitro am Affen-Detrusor die Reihenfolge der relaxierenden Katecholamine mit Isoprenalin (n=6)  $>$  Noradrenalin (n=5)  $>$  Adrenalin (n=7). Die  $pD_2$ -Werte wurden mit  $7,62 \pm 0,13 > 6,83 \pm 0,15 > 5,98 \pm 0,26$  ermittelt, die jeweilige maximale Relaxation mit  $97,3 \pm 1,4 \%$ ,  $96,3 \pm 1,7 \%$  und  $92,9 \pm 2,4 \%$ .

Für den selektiven  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Agonisten Dobutamin (n=6) ergab sich ein  $pD_2$ -Wert von  $5,53 \pm 0,08$ , die maximale Relaxation betrug  $83,1 \pm 0,42 \%$ .

Für den selektiven  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Agonisten Xamoterol (n=6) konnte kein  $pD_2$ -Wert ermittelt werden, die maximale Relaxation errechnete sich mit  $17,7 \pm 5,5 \%$ .

Die selektiven  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonisten Procaterol (n=6) und Salbutamol (n=4) zeigten  $pD_2$ -Werte von  $5,15 \pm 0,13$  und  $5,35 \pm 0,11$ , die maximale Relaxation betrug  $84,2 \pm 4,2 \%$  und  $88,5 \pm 5,1 \%$ .

Für die selektiven  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Agonisten BRL37344 (n=7) und CGP-12177 (n=7) wurden die  $pD_2$ -Werte mit  $6,04 \pm 0,18$  und  $6,60 \pm 0,19$  ermittelt, die maximale Relaxation dabei  $66,2 \pm 5,6 \%$  und  $81,7 \pm 3,0 \%$  (Takeda et al., 2002).

Der selektive  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Antagonist CGP-20712A ( $10^{-9}$  M,  $10^{-8}$  M,  $10^{-7}$  M) und der selektive  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Antagonist ICI-118,551 ( $10^{-9}$  M,  $10^{-8}$  M,  $10^{-7}$  M) zeigten keinen Effekt auf die Isoprenalin-induzierte Konzentrationswirkungskurve.

Bei Einwirkung des unselektiven  $\beta$ -Adrenozeptor-Antagonisten Bupranolol ( $10^{-6}$  M,  $3 \times 10^{-6}$  M,  $10^{-5}$  M) kam es zu einer Rechtsverschiebung der Isoprenalin-induzierten Konzentrationswirkungskurve.

In Anwesenheit des  $\beta_1$ -Adrenozeptor-Antagonisten CGP-20712A ( $10^{-7}$  M) sowie des selektiven  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Antagonisten ICI-118,551 ( $10^{-7}$  M) zeigte der selektive  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Antagonist SR 58894A ( $10^{-7}$  M,  $10^{-6}$  M,  $10^{-5}$  M) eine Rechtsverschiebung der Isoprenalin-induzierten Konzentrationswirkungskurve (Takeda et al., 2002).

Otsuka untersuchte in-vitro selektive und unselektive  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonisten mittels Konzentrationswirkungskurven am isolierten Detrusormuskel der Ratte und des Affen (Otsuka et al., 2008).

Beim Ratten-Detrusor relaxierte der unselektive  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonist Isoproterenol (n=3) konzentrationsabhängig ( $10^{-10}$  M bis  $10^{-5}$  M) mit einem  $pD_2$ -Wert von  $8,03 \pm 0,03$ ; die maximale Relaxation betrug  $93 \pm 1,9$  %.

Die selektiven  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Agonisten AJ-9677 (n=3) und CL 316,243 (n=4) sowie der selektive  $\beta_2$ -Adrenozeptor-Agonist Salbutamol (n=3) relaxierten konzentrationsabhängig ( $10^{-10}$  M bis  $10^{-5}$  M) mit  $pD_2$ -Werten von  $9,00 \pm 0,36$ ,  $7,79 \pm 0,07$  und  $7,59 \pm 0,11$ , die maximale Relaxation wurde mit  $94,3 \pm 2,5\%$ ,  $94,8 \pm 2,1\%$  sowie  $93,6 \pm 2,1\%$  ermittelt.

Beim Affen-Detrusor relaxierte der unselektive  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonist Isoproterenol (n=5) konzentrationsabhängig ( $10^{-9}$  M bis  $10^{-4}$  M) mit einem  $pD_2$ -Wert von  $6,39 \pm 0,41$ ; die maximale Relaxation betrug  $90,3 \pm 1,4$  %.

Die selektiven  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Agonisten AJ-9677 (n=4) und CL 316,243 (n=4) relaxierten ebenfalls konzentrationsabhängig ( $10^{-9}$  M bis  $10^{-4}$  M) mit  $pD_2$ -Werten von  $6,85 \pm 0,90$  und  $< 4,0$ , die maximale Relaxation betrug  $79,8 \pm 6,6$  % und  $45,9 \pm 4,3$  % (Otsuka et al., 2008).

## **4.2 Wissenschaftlicher Hintergrund und Erklärungen zur rank order of potency der endogenen Katecholamine**

Die hier desöfteren sogenannte „rank order of potency“ bzw. Reihenfolge bei der Relaxierung gibt an, mit welcher Abstufung verschiedene Substrate ein Agens, welches zur Kontraktion eines Muskels verwendet wird, antagonisieren, d.h. den vorkontrahierten Muskel wieder zu relaxieren, d.h. zu entspannen vermögen.

In einer bekannten Arbeit von Ahlquist (Ahlquist, 1948) über die Unterteilung der Adrenozeptoren in  $\alpha$ - und  $\beta$ -Adrenorezeptoren an unterschiedlichen Geweben werden rank orders d.h. Reihenfolgen der relativen Aktivität verwendet, d.h. die Aufzählung beginnt von ganz links mit dem potentesten und aktivsten Substrat.

Anlehnend an diese Reihenfolge einer Relaxierungspotenz wird auch in dieser Arbeit eine solche Reihenfolge, englisch als „rank order of potency“ bei den Katecholaminen angegeben. Auch hier beginnt die Reihenfolge mit dem Substrat, das die größtmögliche Relaxierungspotenz aufweist und von dem, bei vergleichbarem Effekt, die niedrigste Konzentration benötigt wird.

Dementsprechend ist der  $pEC_{50}$ -Wert des ganz links in der Reihenfolge stehenden Agens am größten. Der  $pEC_{50}$ -Wert ist der negative dekadische Logarithmus der Konzentration, bei der ein Substrat seinen halbmaximalen Effekt erzielt.

## **4.3 Klinische Anwendung von selektiven $\beta_3$ -Adrenorezeptoren bei OAB**

In den letzten Jahren finden sich zunehmend klinische Studien zur Substanzklasse der selektiven  $\beta_3$ -AR-Agonisten und ihrer Anwendung bei der OAB.

Die meisten Studien finden sich hierbei zu Mirabegron, die Substanz wurde bereits 2007 als mögliche neue Therapieoption erwähnt (Takasu et al., 2007).

Zahlreiche Arbeiten (Takusagawa et al., 2012a, b; Tyagi et al., 2011; Eltink et al., 2012; Gras, 2012; Krauwinkel et al., 2012; Chapple et al., 2013; Iitsuka et al., 2014) bezüglich

Absorption und Metabolismus von Mirabegron im Rahmen von klinischen Phase I- und Phase II-Studien wurden in jüngster Zeit dazu durchgeführt und belegten eine Wirksamkeit. In zwei klinischen Phase III-Studien, einerseits für Nordamerika (Nitti et al., 2014), sowie für Europa / Australien (Khullar et al., 2013) konnte bei täglicher oraler Einnahme von Mirabegron in Dosen von 50 bzw. 100 mg eine Verbesserung der Symptomatik bezgl. Inkontinenzepisoden, Anzahl der Toilettengänge sowie Miktionsvolumen gezeigt werden. Vor allem beide zuletzt genannten Studien tragen wohl einen nicht unwesentlichen Teil zur Zulassung des Wirkstoffs Mirabegron in Japan (Juli 2011), USA (2012) und zuletzt auch in der Europäischen Union (Januar 2013) bei.

#### **4.4 Rolle der Prostaglandine für Kontraktion und Relaxation der Harnblase**

In einer Übersichtsarbeit beleuchtete Wibberley 2005 die Stellung der Prostaglandine und damit zusammenhängende Kaskaden und deren Folgen auf die Symptomatik der überaktiven Blase. Die Autorin plädierte hier für eine differenzierte Betrachtungsweise der sehr komplexen Mechanismen im Zusammenhang mit der Synthese der verschiedenen Prostaglandine (PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, TxA<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>α), welche unterschiedlich auf den afferenten Arm der neuronalen Blasenregulation wirken. Die verschiedenen Prostaglandine interagieren untereinander und bewirken eine z.T. gegensätzliche Wirkung auf Regulationsmechanismen (Wibberley, 2005).

Es wurde schon mehrmals gezeigt, daß Prostaglandine Detrusor-Kontraktionen auslösen können (Hills, 1976; Andersson et al., 1977; Johns and Paton, 1977), aber ihre genaue Rolle in der Pathogenese der Detrusor-Überaktivität ist unklar (Rahnama'i et al., 2013a; Andersson et al., 2009).

##### **4.4.1 Prostaglandin-Kaskade**

Prostaglandine sind Endprodukte im Arachidonsäurestoffwechsel, deren Ausgangsprodukte langkettige Fettsäuren, sogenannte Phospholipide, sind. Prostaglandine können an unterschiedlichen Stellen mit verschiedenen Funktionen im Organismus eingreifen. Ihre hauptsächlichsten Funktionen haben diese Substanzen beim Zellwachstum, in der Gefäßneubildung (Angiogenese), bei Entzündungen sowie der Immunmodulation (Karow and Lang-Roth, 2015; Hata and Breyer, 2004).

Ausgehend von der Arachidonsäure, werden in mehreren Syntheseschritten die verschiedenen Prostaglandine und Leukotriene mittels des Enzyms Cyclooxygenase hergestellt.

In einem ersten Schritt wird aus einem Phospholipid mittels Umwandlung durch Phospholipase A<sub>2</sub> Arachidonsäure synthetisiert (s. [Abbildung 12](#)).

Eine Hemmung dieses Schritts wird z.B. durch den Einsatz von Glukokortikoiden erreicht.

Mittels Umwandlung der Arachidonsäure durch das Enzym Cyclooxygenase wird nun erst Prostaglandin G<sub>2</sub> hergestellt, dieses wiederum durch erneuten Einsatz von Cyclooxygenase zu Prostaglandin H<sub>2</sub> synthetisiert.

In beiden Schritten kann eine Synthese durch den Einsatz von Cyclooxygenasehemmern, auch bekannt als COX-Hemmer bzw. NSAR, den sogenannten nichtsteroidalen Antirheumatika, verhindert werden.

Weiterhin werden, ausgehend vom Prostaglandin H<sub>2</sub>, entweder durch Umwandlung mittels Prostacyclinsynthetase, die Prostaglandine E<sub>2</sub>, F<sub>2α</sub>, D<sub>2</sub> oder Prostacyclin I<sub>2</sub> gebildet, oder aber Thromboxan A<sub>2</sub> durch die Thromboxansynthetase.

Weiterhin können, von der Arachidonsäure ausgehend, durch eine Umwandlung, die nicht Cyclooxygenase-induziert ist, verschiedene Leukotriene (z.B. Leukotrien A<sub>4</sub>, B<sub>4</sub>, C<sub>4</sub>, D<sub>4</sub>) gebildet werden (Karow and Lang-Roth, 2015).

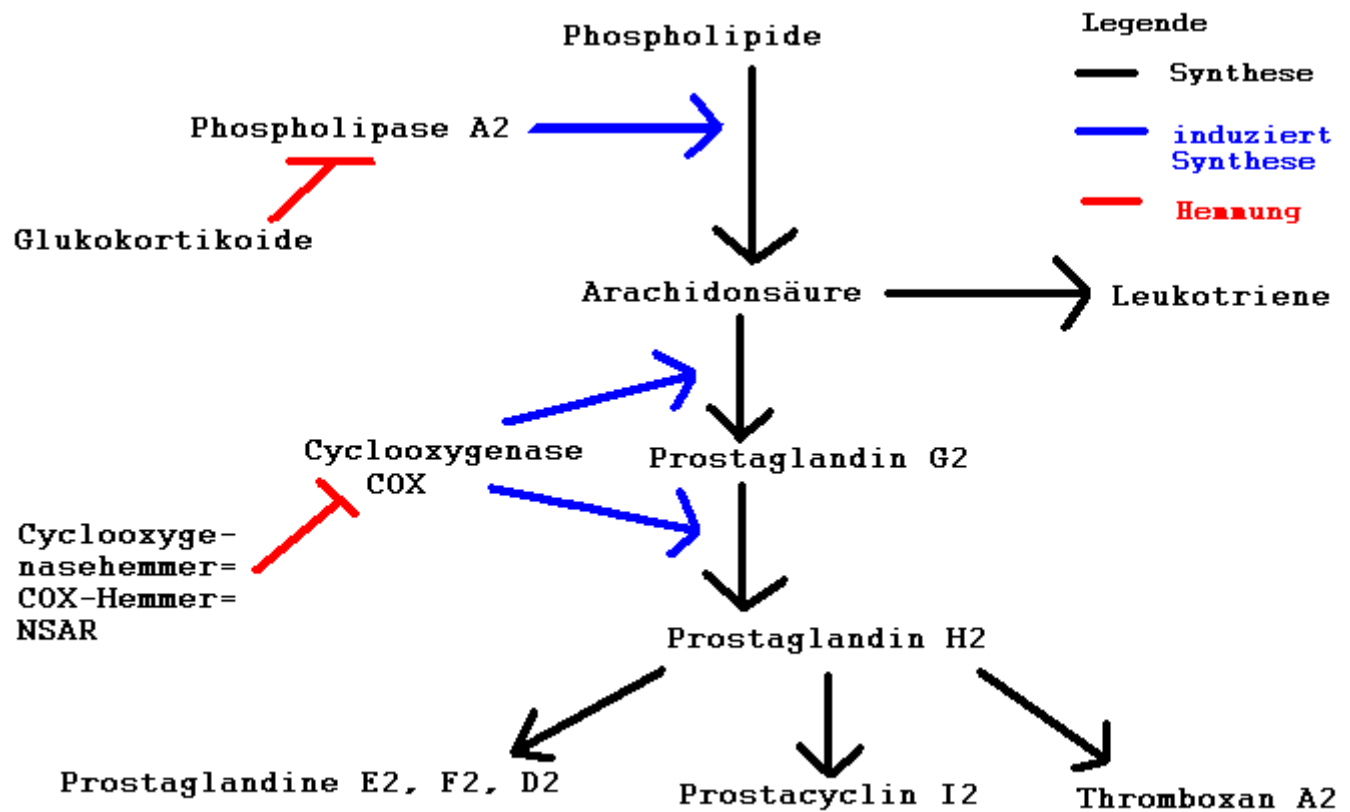


Abbildung 12: Prostaglandinsynthese (in Anlehnung an Karow and Lang-Roth, 2015)

Stellung der Cyclooxygenasehemmer im Arachidonstoffwechsel

#### **4.4.2 Eigene Daten zu Prostaglandinen, COX-Inhibitoren, U73122 im Vergleich mit anderen wissenschaftlichen Publikationen**

Bereits in den 1970er Jahren zeigten Andersson K.-E. et al. eine durch Prostaglandine induzierte Kontraktion am isolierten humanen Harnblasenmuskel in vitro (Andersson and Persson, 1977). Dabei zeigte eine durch  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (Konzentration 0,05-0,1  $\mu\text{g/ml}$ ) induzierte Kontraktion eine höhere Amplitude als durch  $\text{PGE}_1$  (Konzentration 0,2-2  $\mu\text{g/ml}$ ) und  $\text{PGE}_2$  (Konzentration 0,2-2  $\mu\text{g/ml}$ ) vermittelt.

Die Prostaglandin-induzierten Kontraktionen entwickelten sich langsamer als durch eine durch Acetylcholin induzierte Kontraktion (Konzentration 0,05-0,5  $\mu\text{g/ml}$ ) und ließen sich durch Isoprenalin (Konzentration 0,1-0,5  $\mu\text{g/ml}$ ) wieder aufheben (Andersson and Persson, 1977).

Hills (1976) zeigte an isolierten Säugetier-Detrusormuskelstreifen eine durch die Prostaglandine  $\text{PGF}_{2\alpha}$  und  $\text{PGE}_2$  (jeweils in Konzentrationen von 0,2-6,0  $\mu\text{g/ml}$ ) induzierte Kontraktion. Muskeltonus und Spontanaktivität wurde bei allen untersuchten Spezies (Hase, Ratte, Katze, Hund, Schaf, Mensch) außer dem Meerschweinchen durch Indomethazin (in einer Konzentration von 0,5-2  $\mu\text{g/ml}$ ), Meclofenaminsäure (in einer Konzentration von 0,5-1  $\mu\text{g/ml}$ ) sowie Flufenaminsäure (in einer Konzentration von 5-10  $\mu\text{g/ml}$ ) reduziert. Nach Zugabe von  $\text{PGE}_2$  und  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (10-20  $\text{ng/ml}$ ) kehrten Muskeltonus und Spontanaktivität wieder zurück (Hills, 1976).

Johns konnte durch die Prostaglandine  $\text{PGF}_{2\alpha}$  und  $\text{PGE}_2$  eine konzentrationsabhängige Kontraktion sowohl beim Hasen- als auch dem Affen-Detrusor zeigen (Johns and Paton, 1977).

Rahnama'i untersuchte den Einfluß von Prostaglandin  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ) sowie des unselektiven COX-Inhibitors Indomethazin am isoliertem Meerschweinchen-Detrusor (Rahnama'i et al., 2013b).

Nach Zugabe von  $\text{PGE}_2$  (n=5) in einer Konzentration von  $10^{-6}$  M zeigte sich eine deutliche Zunahme der Amplitude der Spontanaktivität auf  $17,1 \pm 7,5$   $\text{cm H}_2\text{O}$  im Vergleich zur Kontrolle mit  $8,0 \pm 4,6$   $\text{cm H}_2\text{O}$ .

Nach Zugabe von  $10^{-5}$  M Indomethazin (n=6) ließ sich ein leichter Abfall der Amplitude der Spontanaktivität auf  $11,6 \pm 5,9$   $\text{cm H}_2\text{O}$  im Vergleich zur Kontrolle mit  $13,2 \pm 6,2$   $\text{cm H}_2\text{O}$  darstellen.

Weiterhin konnte nach vorheriger Einwirkung von Indomethazin ( $10^{-5}$  M; n=6) keine Veränderung der Amplitude einer Kontraktion, welche durch den muskarinergen Agonisten Arecaidin ( $10^{-6}$  M) induziert wurde, festgestellt werden.

Lediglich ein kurzfristiger Abfall (für zwei Minuten) der Kontraktionsfrequenz nach Arecaidin ( $10^{-6}$  M) induzierter Kontraktion wurde registriert (Rahnama'i et al., 2013b).

#### **U73122/ COX-Inhibitor Indomethazin**

##### **4.4.3 Wirkung von Inhibitoren des Arachidonsäurestoffwechsels auf den M. detrusor verschiedener Spezies**

Die Substanzklasse der sogenannten Cyclooxygenase-Inhibitoren wurde 2011 noch in den EAU-Leitlinien zur Inkontinenz erwähnt (Thüroff et al., 2011), in den aktuellen EAU-Leitlinien zur Urininkontinenz finden sie sich nicht mehr (Lucas et al., 2015).



#### 4.4.4 Studienlage zur Wirkung von U73122 auf den M. detrusor

Eine mögliche Rolle bei der Kontraktion der Harnblase könnte der Hemmung der Phospholipase C zukommen.

Bei der allgemein bekannten muscarinerg-vermittelten Kontraktion der Harnblase (Fetscher et al., 2002; Kories et al., 2003; Andersson et al., 2009) kommt es zur Bindung von Acetylcholin an einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor (Karow and Lang-Roth, 2015; Nausch et al., 2010; Fry et al., 2002; Stope et al., 2003), der über Aktivierung von Phospholipase C die Substrate IP<sub>3</sub> (Inositol-tri-phosphat) und DAG (Diacylglycerin) bildet (Karow and Lang-Roth, 2015; Nausch et al., 2010; Fry et al., 2002).

IP<sub>3</sub> kann wiederum am intrazellulären sarkoplasmatischen Reticulum eine Calcium-Freisetzung bewirken, was eine Kontraktion bewirken beziehungsweise unterstützen kann (Nausch et al., 2010; Fry et al., 2002).

Tanaka konnte am Meerschweinchen-Detrusor eine signifikante Reduktion der Spontanaktivität durch den Phospholipase-C-Inhibitor U73122 in einer Konzentration von 10<sup>-5</sup> M nachweisen. Sowohl die Amplitudengröße der Muskelpicks als auch die Frequenz wurden reduziert (n=6), letzteres nicht signifikant (Tanaka et al., 2003).

Schneider untersuchte den Einfluß verschiedenster Phospholipasen sowie Calcium-beeinflussender Substanzen am Muskarin-Rezeptor im Hinblick auf eine Carbachol-induzierte Kontraktion des Ratten-Detrusors. In Anwesenheit des Phospholipase-C-Inhibitors U73122 (10<sup>-5</sup> M) wurde eine, durch Carbachol (10<sup>-3</sup> M) induzierte Inositol-Phosphat-Anhäufung komplett unterdrückt (n=7) (Schneider et al., 2004a).

Weiterhin ließ sich für den Phospholipase-C-Inhibitor U73122 in Konzentrationen von 10<sup>-6</sup> M bis 10<sup>-5</sup> M (n=7) kein signifikanter Effekt auf eine Carbachol-induzierte Kontraktionswirkungskurve (10<sup>-8</sup> bis 10<sup>-4</sup> M) nachweisen (Schneider et al., 2004a).

Schneider zeigte weiterhin beim humanen Musculus detrusor eine Rechtsverschiebung einer Carbachol-induzierten Kontraktionswirkungskurve (10<sup>-8</sup> bis 10<sup>-4</sup> M) durch den Phospholipase-C-Inhibitor U73122 (n=9) in Konzentrationen von 1-10 x 10<sup>-6</sup> M, dabei jedoch ohne statistische Signifikanz (Schneider et al., 2004b).

Eine Arbeitsgruppe um Frazier untersuchte den Einfluß von U73122 am Ratten-Detrusor mittels zwei verschiedener Versuchsprotokolle. In einem Versuchsaufbau zeigte der Phospholipase-C-Inhibitor (10<sup>-5</sup> M, n=12) keinen Effekt auf eine Carbachol-induzierte Kontraktionswirkungskurve (10<sup>-8</sup> M bis 3 x 10<sup>-4</sup> M). In einem weiteren Experiment zeigte sich ebenfalls kein statistisch signifikanter Effekt von U73122 in Konzentrationen von 10<sup>-6</sup> M bis 10<sup>-5</sup> M (n=6) auf eine Carbachol-induzierte Kontraktionswirkungskurve, welche bis zu viermal an einem Ratten-Detrusorstreifen durchgeführt wurde (Frazier et al., 2007).

Unsere eigenen Daten (Badawi et al., 2008) zeigten am Schweine-Detrusor einen relaxierenden Einfluß des Phospholipase-C-Inhibitors U73122 in einer Einwirk-Konzentration von 10<sup>-5,5</sup> M auf eine Carbachol-induzierte konzentrationsabhängige Wirkkurve (10<sup>-8</sup> M bis 10<sup>-4</sup> M). Eine signifikante Veränderung fand sich für Carbachol-Konzentrationen zwischen 10<sup>-6,5</sup> M und 10<sup>-4</sup> M. Die mittlere maximale Carbachol-induzierte Kontraktion lag nach 30-minütiger Vorinkubation mit U73122 bei 141,8 ± 6,8 % (N=10,

n=16) im Vergleich zu einer durch Kalium 124 mM-induzierten Kontraktion und bei  $166,0 \pm 6,4\%$  (N=10, n=13) in der Kontrollgruppe.

Der Phospholipase-C-Inhibitor U73122 ist die aktive Form, sein inaktives Pendant ist U73343. Tanaka konnte dies in Versuchen am Meerschweinchen-Detrusor zeigen (Tanaka et al., 2003). Diese inaktive Form des Inhibitors, U73343, veränderte in den Versuchen weder die Amplitudengröße der Muskelspontanktivität beim Detrusor noch die Frequenz (n=7) (Tanaka et al., 2003).

#### **4.4.5 Studienlage zur Wirkung von Indomethazin auf den M. detrusor**

Hills zeigte 1976 an isolierten Säugetier-Detrusormuskelstreifen eine durch die Prostaglandine PGF<sub>2α</sub> und PGE<sub>2</sub> (jeweils in Konzentrationen von 0,2-6,0 µg/ml) induzierte Kontraktion. Muskeltonus und Spontanaktivität wurden bei allen untersuchten Spezies (Hase, Ratte, Katze, Hund, Schaf, Mensch) außer dem Meerschweinchen durch Indomethazin (in einer Konzentration von 0,5-2 µg/ml) reduziert. Nach Zugabe von PGE<sub>2</sub> und PGF<sub>2α</sub> (10-20 ng/ml) kehrten Muskeltonus und Spontanaktivität wieder zurück (Hills, 1976).

Johns and Paton (1977) untersuchten den Einfluß von Indomethazin in einer Konzentration von  $2,8 \times 10^{-6}$  M auf eine elektrisch induzierte Kontraktion beim Hasen (n=7) sowie am Affen (n=6) bei zwei verschiedenen Temperaturen.

Es zeigte sich beim Hasen eine Hemmung der Kontraktion bei 37° Celsius, während bei 27° Celsius die Kontraktion noch leicht verstärkt wurde.

Beim Affen wiederum zeigte sich bei beiden Temperaturen (27° und 37° Celsius) eine Verstärkung der Kontraktion (Johns and Paton, 1977).

Weiterhin zeigte Indomethazin ( $2,8 \times 10^{-6}$  M) keinen relaxierenden Einfluß auf eine Acetylcholin-induzierte Konzentrationswirkungskurve (ca.  $10^{-6,5}$  M bis  $10^{-2}$  M) beim Hasen (n=6); bei Acetylcholin-Konzentrationen  $< 10^{-4}$  M sowie  $> 10^{-3}$  M zeigte sich eine leichte Verstärkung der Kontraktion (Johns and Paton, 1977).

Choo demonstrierte an der Ratten-Harnblase (n=3) nach elektrischer Stimulation eine Reduktion der initialen Kontraktion sowie der Kontraktion nach einer 10-Sekunden-Stimulation durch Indomethazin in einer Konzentration von  $5 \times 10^{-6}$  M (Choo and Mitchelson, 1980).

Delaere behandelte in einer klinischen Studie an initial 55 Patienten (10 Männer, 45 Frauen) mit primärer Detrusorinstabilität mit Indomethazin in einer Dosis von 50 mg zweimal täglich, für insgesamt sechs Wochen (Delaere et al., 1981).

Alle Patienten zeigten in der funktionellen Untersuchung nicht unterdrückbare Blasenkontraktionen. Harnwegsinfekt, Obstruktion sowie eine neurologische Pathologie waren zuvor ausgeschlossen worden. Alle Patienten hatten eine siebenwöchige vorherige medikamentöse Therapie (Propanthelinbromid, Emeproniumbromid oder Flavoxathydrochlorid) erfolglos hinter sich gebracht. Im follow-up brachen sieben der ursprünglich 55 Patienten die Studie während der sechswöchigen Indomethazin-Einnahme aufgrund schwerer Nebenwirkungen ab. Nebenwirkungen wurden insgesamt von 23 der insgesamt 55 Patienten beschrieben, entsprechend 42 % der Gesamtstudienteilnehmer. Die häufigsten Nebenwirkungen waren Herzrasen bei 13 (entsprechend 24 %) und Kopfschmerzen bei fünf Patienten (entsprechend 9 %) der Studienteilnehmer.

Eine subjektive Symptomverbesserung wurde von insgesamt acht der später 48 bis zum Schluß teilnehmenden Patienten beschrieben, entsprechend 17 %. Davon gaben sechs Patienten eine Besserung und zwei eine Heilung an (Delaere et al., 1981).

Khalaf demonstrierte mittels in-vivo-Versuchen an narkotisierten weiblichen Hunden (n=10) durch intravenös zugeführtes Indomethazin einen Anstieg des Miktionsvolumens auf  $155,2 \pm 25,2$  ml (Kontrolle  $114,9 \pm 17,0$  ml), sowie eine Reduktion des maximalen intravesikalen Drucks auf  $31,3 \pm 3,5$  ml (Kontrolle  $36,1 \pm 3,5$  ml) (Khalaf et al., 1981). Weiterhin zeigte sich eine signifikante Reduktion einer mittels Nerven-Stimulation induzierten isometrischen Detrusor-Kontraktion durch Indomethazin (n=5). Im Gegensatz dazu ergab sich keine signifikante Änderung der Kontraktion, welche durch wiederholte Gaben von Bethanecholchlorid (n=3) erfolgte, nach Einwirkung von Indomethazin (Khalaf et al., 1981).

Eine Arbeit von Wibberley an Katzen konnte nach i.v.-Gabe der nichtselektiven Cyclooxygenase-Inhibitoren Indomethazin (n=4) und Ketoprofen (n=4) eine Zunahme der Harnblasenkapazität von  $96,9 \pm 22,8$  % und  $44,8 \pm 15,5$  % nach Irritation durch eine verdünnte Essigsäure-Lösung zeigen (Wibberley et al., 2006).

Mittels selektiver COX-Inhibition ließ sich kein Effekt nachweisen, weder der selektive COX-1-Inhibitor FR-122047, noch die selektiven COX-2-Inhibitoren NS-398 bzw. Nimesulide bewirkten nach i.v.-Gabe eine signifikante Veränderung im Sinne einer Zunahme der Blasenkapazität. Der selektive COX-2-Inhibitor Nimesulide zeigte keine signifikante Änderung in Bezug auf eine Erhöhung der Blasenkapazität (Wibberley et al., 2006).

Schneider untersuchte den Einfluß verschiedenster Phospholipasen sowie Calcium-beeinflussender Substanzen am Muskarin-Rezeptor im Hinblick auf eine Carbachol-induzierte Kontraktionswirkungskurve ( $10^{-8}$  bis  $10^{-4}$  M) am Ratten-Detrusor (Schneider et al., 2004a).

Beim Cyclooxygenase-Inhibitor Indomethazin (n=8) ließ sich in Konzentrationen von  $1-10 \times 10^{-6}$  M kein Effekt auf eine Carbachol-induzierte Kontraktionswirkungskurve ( $10^{-8}$  bis  $10^{-4}$  M) nachweisen (Schneider et al., 2004a).

Takagi-Masumoto untersuchte die Wirkung von nichtsteroidalen Antirheumatika, nämlich Aspirin, Indomethazin sowie Ketoprofen, am Ratten-Detrusor (n=5-7) bei Tieren mit Zystitis und ohne (Takagi-Masumoto et al., 2004). Dabei wurden rhythmische Blasenkontraktionen nur durch Aspirin und Ketoprofen in der jeweils höchsten Einwirkkonzentration signifikant beeinflusst. Indomethazin zeigte hier in der höchsten Konzentration keinen signifikanten Einfluß.

Weiterhin zeigte sich bei allen drei Substanzen eine Erhöhung der Blasenkapazität (jeweils n=7-8). Signifikanz ergab sich lediglich bei Aspirin, Ketoprofen sowie Indomethazin in der jeweils höchsten Einwirkkonzentration. Lediglich für Ketoprofen in der jeweils höchsten Einwirkkonzentration präsentierte sich ein signifikanter Effekt auf die Verringerung des Restharnvolumens (Takagi-Masumoto et al., 2004).

In unseren eigenen Experimenten ließ sich am Detrusor-Muskel des Schweins kein signifikanter relaxierender Effekt von Indomethazin in Konzentrationen von  $10^{-6}$  M und  $10^{-5}$  M auf eine, durch Carbachol ( $10^{-5}$  M) induzierte maximale Kontraktion nachweisen (Badawi et al., 2008).

Weiterhin ließ sich nach Einwirkung von Indomethazin in einer Konzentration von  $10^{-6}$  M (N=17, n=20) auf eine Carbachol-induzierte Kontraktionswirkungskurve ( $10^{-4}$  M bis  $10^{-8}$  M) eine maximale mittlere Kontraktion von  $166,3 \pm 8,5$  % ermitteln.

Nach Einwirkung von Indomethazin in einer Konzentration von  $10^{-5}$  M (N=n=12) zeigte sich die maximale mittlere Kontraktion mit  $160,5 \pm 9$  % auf eine Carbachol-induzierte Kontraktionswirkungskurve ( $10^{-4}$  M bis  $10^{-8}$  M).

In der Kontrollgruppe (N=11, n=12) lag die maximale mittlere Kontraktion bei  $187,7 \pm 10,5$  % (im Vergleich zur Referenzkontraktion mit Kalium 124 mM).

Insgesamt fand sich für beide Indomethazin-Einwirkkonzentrationen ( $10^{-5}$  M,  $10^{-6}$  M) ein schmaler, jedoch statistisch signifikanter relaxierender Einfluß bei den Carbachol-Konzentrationen  $10^{-7,5}$  M und  $10^{-8}$  M im Vergleich zur Kontrollgruppe (N=11, n=12) (Badawi et al., 2008) (s. Ergebnisteil 3.5.2).

Rahnama'i M.S. untersuchte den Einfluß von Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) sowie des unselektiven COX-Inhibitors Indomethazin am isoliertem Meerschweinchen-Detrusor (Rahnama'i et al., 2013b).

Nach Zugabe von PGE<sub>2</sub> (n=5) in einer Konzentration von  $10^{-6}$  M zeigte sich eine signifikante Zunahme der Amplitude der Spontanaktivität auf  $17,1 \pm 7,5$  cm H<sub>2</sub>O im Vergleich zur Kontrolle mit  $8,0 \pm 4,6$  cm H<sub>2</sub>O.

Nach Zugabe von  $10^{-5}$  M Indomethazin (n=6) ließ sich ein leichter, jedoch signifikanter Abfall der Amplitude der Spontanaktivität auf  $11,6 \pm 5,9$  cm H<sub>2</sub>O im Vergleich zur Kontrolle mit  $13,2 \pm 6,2$  cm H<sub>2</sub>O darstellen (Rahnama'i et al., 2013b).

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Rolle von selektivem  $\beta$ -Adrenozeptor-Agonismus als auch -Antagonismus auf den Musculus detrusor.

Hierzu wurden in-vitro-Versuche an der Spezies Schwein durchgeführt und sofern möglich (bei vorhandenem Gewebe im Rahmen von Zystektomien), am humanen Gewebe getestet.

Weiterhin wurde ein möglicher Einfluß des Cyclooxygenase-Hemmers Indomethazin sowie der des Phospholipase-C-Inhibitors U73122 auf Carbachol-induzierte Kontraktionen der Schweineharnblase untersucht.

Medizinischer Hintergrund ist hierbei der Einfluß im Zusammenhang mit dem Krankheitsbild der überaktiven Harnblase, englisch overactive bladder.

Die in dieser Arbeit vorliegenden Ergebnisse zeigten keine Signifikanz in Bezug auf eine Reihenfolge der relaxierenden Potenz (englisch rank order of relaxing potency) bei der konzentrationsabhängigen Relaxation der menschlichen Harnblase für die drei getesteten Katecholamine Adrenalin, Noradrenalin und Isoprenalin.

Somit liess sich aus unseren Zahlen kein vorherrschender Subtyp der beta-Adrenorezeptoren bei der Relaxation der menschlichen Harnblase ableiten.

Die Unterschiede bei der Relaxierung waren nur minimal, die  $pD_2$ -Werte der Reihenfolge Isoprenalin  $\geq$  Adrenalin  $\geq$  Noradrenalin lagen mit  $6,18 \geq 6,16 \geq 6,09$  sehr dicht beieinander.

Im Gegensatz dazu zeigte sich bei den getesteten  $\beta_3$ -Adrenozeptor-Agonisten ein deutlicherer Unterschied in den  $pD_2$ -Werten mit 6,73 für BRL 37344 sowie 6,28 für CGP 12177.

Den deutlich größeren Unterschied zwischen den beiden selektiven  $\beta_3$ -Adrenzeptor-Agonisten sehe ich in der Möglichkeit einer mangelnden Selektivität, sowohl den Rezeptortyp betreffend, als auch im Hinblick auf die jeweilige Spezies begründet.

Dies unterstreicht die Wichtigkeit einer Rezeptor- als auch Spezies-spezifischen individuellen Forschung im Hinblick auf mögliche neue Therapeutika bei der überaktiven Blase.

Daneben zeigte diese Arbeit nur einen schmalen Effekt des Cyclooxygenase-Hemmers Indomethazin auf Kontraktionswirkkurven beim Schweinedetrusor.

Ein statistisch signifikanter relaxierender Einfluß ließ sich lediglich für die Carbachol-Konzentrationen  $10^{-7.5}$  M und  $10^{-8}$  M nachweisen.

Weiterhin zeigte der Phospholipase-C-Inhibitor U73122 in einer Konzentration ( $10^{-7.5}$  M) einen signifikanten relaxierenden Effekt auf Kalium-induzierte Detrusorkontraktionen beim Schwein.

Beide Substanzklassen (Cyclooxygenase-Hemmer und Phospholipase-C-Inhibitor) scheinen insgesamt eher eine untergeordnete Rolle im Hinblick auf eine relaxierende Wirkung beim Detrusormuskel zu spielen.

Die Datenlage im Hinblick auf eine Prostaglandin-induzierte Relaxation der Harnblase ist insgesamt noch dürftig, auch hier ist noch weitere Forschungsarbeit zu leisten.

## 6 LITERATURVERZEICHNIS

Abrams, P. (1995). Managing lower urinary tract symptoms in older men. *BMJ* 310, 1113-1117.

Abrams, P. (1994). New words for old: lower urinary tract symptoms for "prostatism". *BMJ* 308, 929-930.

Abrams, P., and Andersson, K.E. (2007). Muscarinic receptor antagonists for overactive bladder. *BJU Int* 100, 987-1006.

Abrams, P., Andersson, K.E., Birder, L., Brubaker, L., Cardozo, L., Chapple, C., Cottenden, A., Davila, W., de Ridder, D., Dmochowski, R., Drake, M., DuBeau, C., Fry, C., Hanno, P., Smith, J.H., Herschorn, S., Hosker, G., Kelleher, C., Koelbl, H., Khoury, S., Madoff, R., Milsom, I., Moore, K., Newman, D., Nitti, V., Norton, C., Nygaard, I., Payne, C., Smith, A., Staskin, D., Tekgul, S., Thuroff, J., Tubaro, A., Vodusek, D., Wein, A., and Wyndaele J.J. (2010). Fourth International Consultation on Incontinence Recommendations of the International Scientific Committee: Evaluation and treatment of urinary incontinence, pelvic organ prolapse, and fecal incontinence. *Neurourol Urodyn* 29, 213–240.

Abrams, P., Cardozo, L., Fall, M., Griffiths, D., Rosier, P., Ulmsten, U., van Kerrebroeck, P., Victor, A., and Wein, A. (2002). The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. *Neurourol Urodyn* 21, 167-178.

Abrams, P., Chapple, C., Khoury, S., Roehrborn, C., and de la Rosette, J. International Scientific Committee. (2009). Evaluation and treatment of lower urinary tract symptoms in older men. *J Urol* 181, 1779-1787.

Ahlquist, R.P. (1948). A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol* 153, 586-600.

Akimoto, Y., Horinouchi, T., Tanaka, Y., and Koike, K. (2003). The beta3-adrenoceptor-mediated relaxation induced by dopamine in guinea pig taenia caecum. *J Smooth Muscle Res* 39, 39-45.

Amend, B., Castro-Diaz, D., Chartier-Kastler, E., De Ridder, D., Everaert, K., Spinelli, M., van Kerrebroeck, P., and Sievert, K.D. (2010). Second-line-Therapie der idiopathisch überaktiven Blase. *Sakrale Neuromodulation und Botulinumtoxin A. Urologe A* 49, 245-252.

Andersson, K.E. (2009). Prospective pharmacologic therapies for the overactive bladder. *Ther Adv Urol* 1, 71-83.

Andersson, K.E., Chapple, C.R., Cardozo, L., Cruz, F., Hashim, H., Michel, M.C., Tannenbaum, C., and Wein A.J. (2009). Pharmacological treatment of overactive bladder: report from the International Consultation on Incontinence. *Curr Opin Urol* 19, 380-394.

Andersson, K.E., Ek A., and Persson, C.G. (1977). Effects of prostaglandins on the isolated human bladder and urethra. *Acta Physiol Scand* 100, 165-171.

- Anger, J.T., Weinberg, A., Suttorp, M.J., Litwin, M.S., and Shekelle, P.G. (2010). Outcomes of intravesical botulinum toxin for idiopathic overactive bladder symptoms: a systematic review of the literature. *J Urol* 183, 2258-2264.
- Arch, J.R., Ainsworth, A.T., Cawthorne, M.A., Piercy, V., Sennitt, M.V., Thody, V.E., Wilson, C., and Wilson, S. (1984). Atypical beta-adrenoceptor on brown adipocytes as target for anti-obesity drugs. *Nature* 309, 163-165.
- Astellas 2011 News releases (2011): Astellas Pharma Inc. Launches Betanis® Tablet, a Treatment for OAB, in Japan - Provides a New Option for Patients with OAB -. Online: [https://www.astellas.com/en/corporate/news/pdf/110915\\_en\\_1.pdf](https://www.astellas.com/en/corporate/news/pdf/110915_en_1.pdf), Stand: 04.09.2016.
- Atgié, C., Tavernier, G., D'Allaire, F., Bengtsson, T., Marti, L., Carpené, C., Lafontan, M., Bukowiecki, L.J., and Langin, D. (1996). Beta 3-adrenoceptor in guinea pig brown and white adipocytes: low expression and lack of function. *Am J Physiol* 271, R1729-R1738.
- Athanasopoulos, A. (2011). The pharmacotherapie of overactive bladder. *Expert opinion pharmacother* 12, 1003-1005.
- Badawi, J.K., Seja, T., and Bross, S. (2008). In vitro effects of the cyclooxygenase inhibitor indomethacin and of the phospholipase-C-inhibitor U-73122 on carbachol-induced contractions of porcine detrusor muscle. *Fundam Clin Pharmacol* 22, 667-672.
- Badawi, J.K., Seja, T., Uecelehan, H., Honeck, P., Kwon, S.T., Bross, S., and Langbein, S. (2007). Relaxation of human detrusor muscle by selective beta-2 and beta-3 agonists and endogenous catecholamines. *Urology* 69, 785-790.
- Basra, R.K., Wagg, A., Chapple, C., Cardozo, L., Castro-Diaz, D., Pons, M.E., Kirby, M., Milsom, I., Vierhout, M., Van Kerrebroeck, P., and Kelleher, C. (2008). A review of adherence to drug therapy in patients with overactive bladder. *BJU Int* 102, 774-779.
- Bojanic, D., Jansen, J.D., Nahorski, S.R., and Zaagsma, J. (1985). Atypical characteristics of the beta-adrenoceptor mediating cyclic AMP generation and lipolysis in the rat adipocyte. *Br J Pharmacol* 84, 131-137.
- Brown, J.S., McGhan, W.F., and Chokroverty, S. (2000). Comorbidities associated with overactive bladder. *Am J Manag Care* 6, 574-579.
- Chapple, C.R., Dvorak, V., Radziszewski, P., Van Kerrebroeck, P., Wyndaele, J.J., Bosman, B., Boerrigter, P., Drogendijk, T., Ridder, A., Van Der Putten-Slob, I., Yamaguchi, O.; Dragon Investigator Group. (2013). A phase II dose-ranging study of mirabegron in patients with overactive bladder. *Int Urogynecol J* 24, 1447-1458.
- Chapple, C.R., Wein, A.J., Abrams, P., Dmochowski, R.R., Guiliano, F., Kaplan, S.A., McVary, K.T., and Roehrborn, C.G. (2008). Lower urinary tract symptoms revisited: a broader clinical perspective. *Eur Urol* 54, 563-569.
- Choo, L.K., and Mitchelson, F. (1980). The effect of indomethacin and adenosine 5'-triphosphate on the excitatory innervation of the rat urinary bladder. *Can J Physiol Pharmacol* 58, 1042-1048.

Delaere, K.P., Debruyne, F.M., and Moonen, W.A. (1981). The use of indomethacin in the treatment of idiopathic bladder instability. *Urol Int* 36, 124-127.

De Souza, C.J., and Burkey, B.F. (2001). Beta 3-adrenoceptor agonists as anti-diabetic and anti-obesity drugs in humans. *Curr Pharm Des* 7, 1433-1449.

Dixon, R.A., Kobilka, B.K., Strader D.J., Benovic J.L., Dohlman, H.G., Frielle, T., Bolanowski, M.A., Bennett, C.D., Rands, E., Diehl, R.E., Mumford, R.A., Slater, E.E., Sigal, I.S., Caron, M.G., Lefkowitz, R.J., and Strader, C.D. (1986). Cloning of the gene and cDNA for mammalian beta-adrenergic receptor and homology with rhodopsin. *Nature* 321, 75–79.

Ellsworth, P. (2012). Treatment of overactive bladder symptoms beyond antimuscarinics: current and future therapies. *Postgrad Med* 124, 16-27.

Elmér, M. (1974). Inhibitory beta-adrenoceptors in the urinary bladder of the rat. *Life Sci* 15, 273-280.

Eltink, C., Lee, J., Schaddelee, M., Zhang, W., Kerbusch, V., Meijer, J., van Marle, S., Grunenberg, N., Kowalski, D., Drogendijk, T., Moy, S., Iitsuka, H., van Gelderen, M., Matsushima, H., and Sawamoto, T. (2012). Single dose pharmacokinetics and absolute bioavailability of mirabegron, a  $\beta_3$ -adrenoceptor agonist for treatment of overactive bladder. *Int J Clin Pharmacol Ther* 50, 838-850.

Emorine, L.J., Marullo, S., Briend-Sutren, M.M., Patey, G., Tate, K., Delavier-Klutchko, C., and Strosberg, A.D. (1989). Molecular characterization of the human beta 3-adrenergic receptor. *Science* 245, 1118-1121.

Enocksson, S., Shimizu, M., Lönnqvist, F., Nordenström, J., and Arner, P. (1995). Demonstration of an in vivo functional beta 3-adrenoceptor in man. *J Clin Invest* 95, 223-2245.

Epstein, B.J., Gums, J.G, and Molina, E. (2006). Newer agents for the management of overactive bladder. *Am Fam Physician* 74, 2061-2068

FDA (November 2015): Myrbetriq (mirabegron) Extended Release Tablets Prescribing Information. Online: [http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2015/202611s005lbl.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2015/202611s005lbl.pdf), Stand 04.09.2016.

FDA News release (2012): FDA Approves Overactive bladder Treatment Myrbetriq™ (mirabegron) from Astellas. Online: <http://newroom.astellas.us/2012-06-28-FDA-Approves-Overactive-bladder-Treatment-Myrbetriq-mirabegron-from-Astellas>, Stand: 28.05.2016.

Frazier, E.P., Braverman, A.S., Peters, S.L., Michel, M.C., and Ruggieri, M.R. Sr. (2007). Does phospholipase C mediate muscarinic receptor-induced rat urinary bladder contraction ? *J Pharmacol Exp Ther* 322, 998-1002.



- Fetscher, C., Fleischman, M., Schmidt, M., Krege, S., and Michel, M.C. (2002). M(3) muscarinic receptors mediate contraction of human urinary bladder. *Br J Pharmacol* 136, 641-643.
- Fève, B., Emorine, L.J., Lasnier, F., Blin, N., Baude, B., Nahmias, C., Strosberg, A.D., and Pairault, J.J. (1991). Atypical beta-adrenergic receptor in 3T3-F442A adipocytes. Pharmacological and molecular relationship with the human beta 3-adrenergic receptor. *J Biol Chem* 266, 20329-20336.
- Fisher, M.H., Amend, A.M., Bach, T.J., Barker, J.M., Brady, E.J., Candelore, M.R., Carroll, D., Cascieri, M.A., Chiu, S.H., Deng, L., Forrest, M.J., Hegarty-Friscino, B., Guan, X.M., Hom, G.J., Hutchins, J.E., Kelly, L.J., Mathvink, R.J., Metzger, J.M., Miller, R.R., Ok, H.O., Parmee, E.R., Saperstein, R., Strader, C.D., Stearns, R.A., Thompson, G.M., Tota, L., Vicario, P.P., Weber, A.E., Woods, J.W., Wyvratt, M.J., Zafian, P.T., and MacIntyre, D.E. (1998). A selective human beta3 adrenergic receptor agonist increases metabolic rate in rhesus monkeys. *J Clin Invest* 101, 2387-2393
- Ganz, M.L., Smalarz, A.M., Krupski, T.L., Anger, J.T., Hu, J.C., Wittrup-Jensen, K.U., and Pashos, C.L. (2010). Economic costs of overactive bladder in the United States. *Urology* 75, 526-532, 532.e1-18.
- Granneman, J.G. (2001). The putative beta4-adrenergic receptor is a novel state of the beta1-adrenergic receptor. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 280, E199-E202.
- Granneman, J.G., Lahners, K.N., and Chaudhry, A. (1991). Molecular cloning and expression of the rat beta 3-adrenergic receptor. *Mol Pharmacol* 40, 895-899.
- Granneman, J.G., Lahners, K.N., and Chaudhry, A. (1993). Characterization of the human beta 3-adrenergic receptor gene. *Mol Pharmacol* 44, 264-270.
- Granneman, J.G., Zhai, Y., and Lahners, K.N. (1997). Selective up-regulation of alpha1-adrenergic receptor protein and mRNA in brown adipose tissue by neural and beta3-adrenergic stimulation. *Mol Pharmacol* 51, 644-650.
- Gras, J. (2012). Mirabegron for the treatment of overactive bladder. *Drugs Today* 48, 25-32.
- Guan, X.M., Amend, A., and Strader, C.D. (1995). Determination of structural domains for G protein coupling and ligand binding in beta 3-adrenergic receptor. *Mol Pharmacol* 48, 492-498.
- Guimarães, S., and Moura, D. (2001). Vascular adrenoceptors: an update. *Pharmacol Rev* 53, 319-356.
- Hata, A.N. and Breyer, R.M. (2004). Pharmacology and signaling of prostaglandin receptors: multiple roles in inflammation and immune modulation. *Pharmacol Ther* 103, 147-166.
- Herbison, P., Hay-Smith J., Ellis, G., and Moore, K. (2003). Effectiveness of anticholinergic drugs compared with placebo in the treatment of overactive bladder: systematic review. *BMJ* 326, 841-844

Hills, N.H. (1976). Prostaglandins and tone in isolated strips of mammalian bladder. *Br J Pharmacol* 57, 464P-465P.

Hu, T.W., Wagner, T.H., Bentkover, J.D., Leblanc, K., Zhou, S.Z., Hunt, T. (2004). Costs of urinary incontinence and overactive bladder in the United States: a comparative study. *Urology* 63, 461-465.

Igawa, Y., Yamazaki, Y., Takeda, H., Hayakawa, K., Akahane, M., Ajisawa, Y., Yoneyama, T., Nishizawa, O., and Andersson, K.E. (1999). Functional and molecular biological evidence for a possible beta<sub>3</sub>-adrenoceptor in the human detrusor muscle. *Br J Pharmacol* 126, 819-825.

Igawa, Y., Schneider, T., Yamazaki, Y., Tatemichi, S., Homma, Y., Nishizawa, O., and Michel, M.C. (2012). Functional investigation of β-adrenoceptors in human isolated detrusor focusing on the novel selective β<sub>3</sub>-adrenoceptor agonist KUC-7322. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 385, 759-767.

Iitsuka, H., Tokuno, T., Amada, Y., Matsushima, H., Katashima, M., Sawamoto, T., Takusagawa, S., van Gelderen, M., Tanaka, T., and Miyahara H. (2014). Pharmacokinetics of mirabegron, a β<sub>3</sub>-adrenoceptor agonist for treatment of overactive bladder, in healthy Japanese male subjects: results from single- and multiple-dose-studies, *Clin Drug Investig.* 34, 27-35.

Irwin, D.E., Kopp, Z.S., Agatep, B., Milsom, I., and Abrams, P. (2011). Worldwide prevalence estimates of lower urinary tract symptoms, overactive bladder, urinary incontinence and bladder outlet obstruction. *BJU Int* 108, 1132-1138.

Irwin, D.E, Milsom, I., Hunksaar, S., Reilly, K., Kopp, Z., Herschorn, S., Coyne, K., Kelleher, C., Hampel, C., Artibani, W., and 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. *Eur Urol* 50, 1306-1314; discussion 1314-1315.

Irwin, D.E, Milsom, I., Kopp, Z., Abrams, P., Artibani, W., and Herschorn, S. (2009). Prevalence, severity, and symptom bother of lower urinary tract symptoms among men in the EPIC study: impact of overactive bladder. *Eur Urol* 56, 14-20.

Jin, F., Lu, C., Sun, X., Li, W., Liu, G., and Tang, Y. (2011). Insights into the binding modes of human β<sub>3</sub>-adrenergic receptor agonists with ligand-based and receptor-based methods. *Mol Divers* 15, 817-831.

Johns, A., and Paton, D.M. (1977). Effect of indomethacin on atropine-resistant transmission in rabbit and monkey urinary bladder: evidence for involvement of prostaglandins in transmission. *Prostaglandins* 13, 245–254.

Johnson, M. (1998). The beta-adrenoceptor. *Am J Respir Crit Care Med* 158, S146-S153.

Karow, T., and Lang-Roth, R. (2015). *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 24. Auflage. (Pulheim: Thomas Karow).

Kaumann, A.J., and Molenaar, P. (1997). Modulation of human cardiac function through 4 beta-adrenoceptor populations. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 355, 667-681.

Kessler, T. M., Burkhard, F. C., and Studer U. E. (2005). Sakrale Neuromodulation - letzte Hoffnung bei therapierefraktären Blasenfunktionsstörungen und chronischem Schmerzsyndrom des Beckens ? Schweiz Med Forum 5, 540–545.

Khalaf, I.M., Ghoneim, M.A., and Elhilali, M.M. (1981). The effect of exogenous prostaglandins F2 alpha and E2 and indomethacin on micturition. Br J Urol 53, 21-28.

Khullar, V., Cambroner, J., Angulo, J.C., Wooning, M., Blauwet, M.B., Dorrepaal, C., and Martin, N.E. (2013). Efficacy of mirabegron in patients with and without prior antimuscarinic therapy for overactive bladder: a post hoc analysis of a randomized European-Australian Phase 3 trial. BMC Urol 18, 13:45.

Klotz, T., Brüggjenjürgen, B., Burkart, M., and Resch, A. (2007). The economic costs of overactive bladder in Germany. Eur Urol 51, 1654-1662; discussion 1662-1663

Knüpfer, S., Hamann, M., Naumann, C.M., Melchior, D., and Jünemann, K.P. (2011). Die therapierefraktäre überaktive Blase. Alternative Therapieansätze. Urologe A 50, 806-809.

Konkar, A.A., Zhu, Z., and Granneman, J.G. (2000). Aryloxypropanolamine and catecholamine ligand interactions with the beta(1)-adrenergic receptor: evidence for interaction with distinct conformations of beta(1)-adrenergic receptors. J Pharmacol Exp Ther 294, 923–932.

Kories, C., Czyborra, C., Fetscher, C., Schneider, T., Krege, S., and Michel, M.C. (2003). Gender comparison of muscarinic receptor expression and function in rat and human urinary bladder: differential regulation of M2 and M3 receptors ? Naunyn Schmiedbergs Arch Pharmacol 367, 524-531.

Krauwinkel, W., van Dijk, J., Schaddelee, M., Eltink, C., Meijer, J., Strabach, G., van Marle, S., Kerbusch, V., van Gelderen, M. (2012). Pharmacokinetic properties of mirabegron, a  $\beta$ 3-adrenoceptor agonist: results from two phase I, randomized, multiple-dose studies in healthy young and elderly men and women. Clin Ther 34, 2144-2160.

Krief, S., Lönnqvist, F., Raimbault, S., Baude, B., Van Spronsen, A., Arner, P., Strosberg, A.D., Ricquier D., and Emorine, L.J. (1993). Tissue distribution of beta 3-adrenergic Receptor mRNA in man. J Clin Invest 91, 344-349.

Lands, A.M., Arnold, A., McAuliff, J.P., Luduena F.P., and Brown, T.G. Jr. (1967). Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. Nature 214, 597-598.

Larsen, J.J. (1979). Alpha and beta-adrenoceptors in the detrusor muscle and bladder base of the pig and beta-adrenoceptors in the detrusor muscle of man. Br J Pharmacol 65, 215-222

Lee, Y.S., Lee, K.S., Jung, J.H., Han, D.H., Oh, S.J., Seo, J.T., Lee, J.G., Park, H.S., and Choo, M.S. (2011). Prevalence of overactive bladder, urinary incontinence, and lower urinary tract symptoms: results of Korean EPIC study. World J Urol 29, 185-190

Lelias J.M., Kaghad, M., Rodriguez, M., Chalon, P., Bonnin, J., Dupre, I., Delpech, B., Bensaid, M., LeFur, G., Ferrara, P., and Caput D. (1993). Molecular cloning of a human beta 3-adrenergic receptor cDNA. *FEBS Lett* 324, 127-130.

Li, J.H., Yasay, G.D., and Kau, S.T. (1992). Beta-adrenoceptor subtypes in the detrusor of guinea-pig urinary bladder. *Pharmacology* 44, 13-18.

Longhurst, P.A., and Levensky, M. (1999). Pharmacological characterization of beta-adrenoreceptors mediating relaxation of the rat urinary bladder in vitro. *Br J Pharmacol* 127,1744-1750.

Lucas M.G., Bedretidnova D, Berghmans L.C., Bosch J.L.H.R., Burkhard F.C., Cruz F., Nambiar A.K., Nilsson C.G., Tubaro A., Pickard R.S. (2015). EAU Guidelines on Urinary Incontinence.

Masunaga, K., Chapple, C.R., McKay, N.G., Yoshida, M., and Sellers, D.J. (2010). The  $\beta$ 3-adrenoceptor mediates the inhibitory effects of  $\beta$ -adrenoceptor agonists via the urothelium in pig bladder dome. *Neurourol Urodyn.* 29, 1320-1325.

Mehnert, U.,and Schurch, B. (2009). Botulinumtoxin bei nichtneurogenen Blasenfunktionsstörungen. *Urologe A* 48, 233-244.

Meyers, D.S., Skwish S., Dickinson K.E., Kienzle B., and Arbeeny, C.M. (1997). Beta 3-adrenergic receptor-mediated lipolysis and oxygen consumption in brown adipocytes from cynomolgus monkeys. *J Clin Endocrinol Metab* 82, 395-401.

Milsom, I., Kaplan, S.A., Coyne, K.S., Sexton, C.C., and Kopp, Z.S. (2012). Effect of bothersome overactive bladder symptoms on health-related quality of life, anxiety, depression, and treatment seeking in the United States: results from EpiLUTS. *Urology* 80, 90-96.

Molenaar, P., Sarsero, D., and Kaumann, A.J. (1997). Proposal for the interaction of non-conventional partial agonists and catecholamines with the 'putative beta 4-adrenoceptor' in mammalian heart. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 24, 647-656.

Monteiro, É.S., de Carvalho, L.B., Fukujima, M.M., Lora, M.I. and, do Prado, G.F. (2014). Electrical stimulation of the posterior tibialis nerve improves symptoms of poststroke neurogenic overactive bladder in men: a randomized controlled trial. *Urology* 84, 509-514.

Morita, T., Dohkita, S., Kondo, S., Nishimoto, T., Hirano, S., and Tsuchida, S. (1990). Cyclic adenosine monophosphate production and contractile response induced by beta-adrenoceptor subtypes in rabbit urinary bladder smooth muscle. *Urol Int* 45, 10-15.

Nahmias, C., Blin, N., Elalouf, J.M., Mattei, M.G., Strosberg, A.D., and Emorine, L.J. (1991). Molecular characterization of the mouse beta 3-adrenergic receptor: relationship with the atypical receptor of adipocytes. *EMBO J* 10, 3721-3727.

Nausch, B., Heppner, T.J., and Nelson, M.T. (2010). Nerve-released acetylcholine contracts urinary bladder smooth muscle by inducing action potentials independently of IP3-mediated calcium release. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 299, R878-888.

Nergårdh, A., Boréus, L.O., and Naglo, A.S. (1977). Characterization of the adrenergic beta-receptor in the urinary bladder of man and cat. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 40, 14-21.

Nitti, V.W., Chapple, C.R., Walters, C., Blauwet, M.B., Herschorn, S., Milsom, I., Auerbach, S., Radziszewski P. (2014). Safety and tolerability of the  $\beta_3$ -adrenoceptor agonist mirabegron, for the treatment of overactive bladder: results of a prospective pooled analysis of three 12-week randomised Phase III trials and of a 1-year randomised Phase III trial. *Int J Clin Pract* 68, 972-985.

Novara, G., Galfano, A., Secco, S., D'Elia, C., Cavalleri S, Ficarra V., and Artibani, W. (2008). A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials with antimuscarinic drugs for overactive bladder. *Eur Urol* 54, 740-763.

Oshita, M., Hiraoka, Y., and Watanabe, Y. (1997). Characterization of beta-adrenoceptors in urinary bladder: comparison between rat and rabbit. *Br J Pharmacol* 122, 1720-1724.

Otsuka, A., Shinbo, H., Hasebe, K., Matsumoto, R., and Ozono S. (2008). Effects of a novel beta(3)-adrenoceptor agonist, AJ-9677, on relaxation of the detrusor muscle: an in vitro study. *Int J Urol* 15, 1072-1076.

Pannek, J., Janek, S., and Noldus, J. (2010). Neurogene oder idiopathische Detrusorüberaktivität nach erfolgloser antimuskarinerges Therapie. *Klinische Wertigkeit der externen temporären Elektrostimulation. Urologe A* 49, 530-535.

Piétri-Rouxel, F., Lenzen, G., Kapoor, A., Drumare, M.F., Archimbault, P., Strosberg, A.D., and Manning, B. (1995). Molecular cloning and pharmacological characterization of the bovine beta 3-adrenergic receptor. *Eur J Biochem* 230, 350-358.

Piétri-Rouxel, F., and Strosberg, A.D. (1995). Pharmacological characteristics and species-related variations of beta 3-adrenergic receptors. *Fundam Clin Pharmacol* 9, 211-218.

Pressemitteilung Pharm-Allergan GmbH (2011): BOTOX® von Allergan erhält in Deutschland Zulassungserweiterung für Harninkontinenz bei Patienten mit MS oder Rückenmarksverletzung. Pressemitteilung, 30.09.2011. Online: <http://www.presseportal.de/pm/56484/2121834>, Stand 04.09.2016.

Pressemitteilung Pharm-Allergan GmbH (2013): BOTOX® zur Behandlung der „Reizblase“ zugelassen. Pressemitteilung, 04.02.2013. Online: <http://www.presseportal.de/pm/56484/2409713>, Stand 04.09.2016.

Rahnama'i, M.S., Van Koeveringe, G.A., and Van Kerrebroeck, P.E. (2013). Overactive bladder syndrome and the potential role of prostaglandins and phosphodiesterases: an introduction. *Nephrourol Mon* 5, 934-945.

Rahnama'i, M.S., van Koeveringe, G.A., van Kerrebroeck, P.E., and de Wachter, S.G. (2013). The effect of indomethacin on the muscarinic induced contractions in the isolated normal guinea pig urinary bladder. *BMC Urol* 7, 13:8.

Reeves, P., Irwin, D., Kelleher, C., Milsom, I., Kopp, Z., Calvert, N., and Lloyd, A. (2006). The current and future burden and cost of overactive bladder in five European countries. *Eur Urol* 50, 1050-1057.

Schönberger, B. (2003). Die überaktive Blase. Welche Diagnostik ist vor Beginn der Primärtherapie notwendig ? *Urologe A* 42, 787-792.

Schneider, T., Hein, P., and Michel, M.C. (2004). Signal transduction underlying carbachol-induced contraction of rat urinary bladder. I. Phosphlipases and Ca<sup>2+</sup> sources. *J Pharmacol Exp Ther* 308, 47-53.

Schneider, T., Fetscher, C., Krege, S., and Michel, M.C. (2004). Signal transduction underlying carbachol-induced contraction of human urinary bladder. *J Pharmacol Exp Ther* 309, 1148-1153.

Seguchi, H., Nishimura, J., Zhou, Y., Niuro, N., Kumazawa, J., and Kanaide, H. (1998). Expression of beta3-adrenoceptors in rat detrusor smooth muscle. *J Urol* 159, 2197-2201.

Schweizerisches Heilmittelinstitut (2014). Zulassung eines Arzneimittels mit neuem Wirkstoff: Betmiga<sup>TM</sup>, Retardtabletten (Mirabegronum). *Swissmedic Journal*, 392.

Stope, M.B., Kunkel, C., Kories, C., Schmidt, M., and Michel, M.C. (2003). Differential agonist-induced regulation of human M2 and M3 muscarinic receptors. *Biochem Pharmacol* 66, 2099-2105.

Strosberg, D. (1997). Structure and function of the beta 3-adrenergic receptor. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 37, 421-450.

Takagi-Masumoto, H., Ng, B., Tsukimi, Y., and Tajimi, M. (2004). Effects of NSAIDs on bladder function in normal and cystitis rats: a comparison study of aspirin, indomethacin, and ketoprofen. *J Pharmacol Sci* 95, 458-465.

Takasu, T., Ukai, M., Sato, S., Matsui, T., Nagase, I., Maruyama, T., Sasamata, M., Miyata, K., Uchida, H., and Yamaguchi, O. (2007). Effect of (R)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-4'-{2-[(2-hydroxy-2-phenylethyl)amino]ethyl} acetanilide (YM178), a novel selective beta3-adrenoceptor agonist, on bladder function. *J Pharmacol Exp Ther* 321, 642-647.

Takeda, H., Igawa, Y., Komatsu, Y., Yamazaki, Y., Akahane, M., Nishizawa, O., and Ajisawa, Y. (2000). Characterization of beta-adrenoceptor subtypes in the ferret urinary bladder in vitro and in vivo. *Eur J Pharmacol* 403, 147-155.

Takeda, H., Yamazaki, Y., Akahane, M., Akahane, S., Miyata, H., Igawa, Y., and Nishizawa O. (2002). Characterization of beta-adrenoceptor subtype in bladder smooth muscle in cynomolgus monkey. *Jpn J Pharmacol* 88, 108-113.

Takeda, H., Matsuzawa, A., Igawa, Y., Yamazaki, Y., Kaidoh, K., Akahane, S., Kojima, M., Miyata, H., Akahane, M., and Nishizawa, O. (2003). Functional characterization of beta-adrenoceptor subtypes in the canine and rat lower urinary tract. *J Urol* 170, 654-658.

Takusagawa, S., van Lier, J.J., Suzuki, K., Nagata, M., Meijer, J., Krauwinkel, W., Schaddelee, M., Sekiguchi, M., Miyashita, A., Iwatsubo, T., van Gelderen, M., and Usui, T. (2012). Absorption, metabolism and excretion of [(14)C]mirabegron (YM178), a potent and selective  $\beta(3)$ -adrenoceptor agonist, after oral administration to healthy male volunteers. *Drug Metab Dispos* 40, 815-824.

- Takusagawa, S., Yajima, K., Miyashita, A., Uehara, S., Iwatsubo, T., and Usui, T. (2012). Identification of human cytochrome P450 isoforms and esterases involved in the metabolism of mirabegron, a potent and selective  $\beta_3$ -adrenoceptor agonist. *Xenobiotica* 42, 957-967.
- Tanaka, Y., Okamoto, T., Imai, T., Horinouchi, T., Tanaka, H., Shigenobu, K., and Koike, K. (2003). Phospholipase C inhibitors suppress spontaneous mechanical activity of guinea pig urinary bladder smooth muscle. *Biol Pharm Bull* 26, 1192-1194.
- Thüroff, J.W., Abrams, P., Andersson, K.E., Artibani, W., Chapple, C.R., Drake, M.J., Hampel, C., Neisius, A., Schröder, A., and Tubaro, A. (2011). EAU guidelines on urinary incontinence. *Eur Urol* 59, 387-400.
- Tyagi, P., Tyagi, V., and Chancellor, M. (2011). Mirabegron: a safety review. *Expert Opin Drug Saf* 10, 287-294.
- Van Spronsen, A., Nahmias, C., Krief, S., Briend-Sutren, M.M., Strosberg, A.D., and Emorine, L.J. (1993). The promoter and intron/exon structure of the human and mouse beta 3-adrenergic-receptor genes. *Eur J Biochem* 213, 1117-1124.
- Wehling, M. (2014). Non-steroidal anti-inflammatory drug use in chronic pain conditions with special emphasis on the elderly and patients with relevant comorbidities: management and mitigation of risks and adverse effects. *Eur J Clin Pharmacol* 70, 1159-1172.
- Wein, A.J., and Rackley, R.R. (2006). Overactive bladder: a better understanding of pathophysiology, diagnosis and management. *J Urol* 175, S5-S10.
- Wein, A.J., and Rovner, E.S. (2002). Definition and epidemiology of overactive bladder. *Urology* 60, 7-12; discussion 12.
- Wibberley, A. (2005). Overactive bladder: Targeting prostaglandins in sensory pathways. *Drug Discov Today Ther Strateg* 2, 7-13.
- Wibberley, A., McCafferty, G.P., Evans, C., Edwards, R.M., and Hieble J.P. (2006). Dual, but not selective, COX-1 and COX-2 inhibitors, attenuate acetic acid-evoked bladder irritation in the anaesthetised female cat. *Br J Pharmacol* 148, 154-161.
- Yamamoto, Y., Mori, A., and Koike, K. (1998). Beta-adrenoceptors in the detrusor of guinea pig bladder. *J Smooth Muscle Res* 34, 233-242.
- Yamanishi, T., Chapple, C.R., Yasuda, K., Yoshida, K., and Chess-Williams, R. (2002). The role of beta(3)-adrenoceptors in mediating relaxation of porcine detrusor muscle. *Br J Pharmacol* 135, 129-134.
- Yamanishi, T., Yasuda, K., Kitahara, S., Nakai, H., Yoshida, K., and Iizuka, H. (2006). Effects of 138-355, a beta3-adrenoceptor selective agonist, on relaxation of the human detrusor muscle in vitro. *Neurourol Urodyn* 25, 815-819.
- Yamazaki, Y., Takeda, H., Akahane, M., Igawa, Y., Nishizawa, O., and Ajisawa, Y. (1998). Species differences in the distribution of beta-adrenoreceptor subtypes in bladder smooth muscle. *Br J Pharmacol* 124, 593-599.

## 7 LEBENSLAUF

### PERSONALIEN

Name und Vorname: Seja, Tobias  
Geburtsdatum: 03.02.1975  
Geburtsort: Ludwigshafen am Rhein  
Familienstand: verheiratet  
Vater: Herbert Seja  
Mutter: Gertrud Seja

### SCHULISCHER WERDEGANG

1985 – 1994 Staatl. Geschwister-Scholl-Gymnasium Ludwigshafen am Rhein  
17.06.1994 Abitur

### UNIVERSITÄRER WERDEGANG

SS 1996 Beginn des Studiums (Medizin)  
an der Universität Heidelberg  
25.03.1998 Ärztliche Vorprüfung / Physikum  
29.08.2002 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
2002 – 2005 Hauptstudium Medizin  
21.03.2005 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
2005 – 2006 Praktisches Jahr  
17.05.2006 Approbation

### BERUF

2006 - 2013 Assistenzarztstätigkeit Chirurgie Schweiz / Urologie Deutschland  
2012 Facharztprüfung Urologie  
Seit 2013 Facharztstätigkeit Schweiz



## 8 DANKSAGUNG

Frau PD Dr. J.K. Badawi danke ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und die ausgezeichneten Möglichkeiten, es zu bearbeiten. Desweiteren danke ich ihr für die unverzichtbare Hilfe beim Planen und Entwerfen der Versuchsreihen, beim Etablieren der Methodik und für die Geduld, mit der sie mich in die praktischen Tätigkeiten im Labor einlernte. Besonderen Dank schulde ich ihr für die Hilfe bei der Datenauswertung und für die daraus entstandene Publikation, deren Grafiken ich für die Dissertation modifiziert übernehmen durfte. Insbesondere möchte ich mich jedoch für die intensive Betreuung bedanken, und dass sie mir stets schnell und zu jeder Zeit mit Rat zur Seite stand, sowohl persönlich als auch schriftlich und telefonisch. Letztendlich möchte ich mich dafür bedanken, dass Frau PD Dr. J.K. Badawi mir durch die erfolgreiche Zusammenarbeit das wissenschaftliche Arbeiten nähergebracht hat.

Herzlich bedanken möchte ich mich außerdem bei Frau U. Gruber, die mich mit großer Geduld in die Arbeitstechniken und Methoden im Labor eingelernt hat und mir immer mit gutem Rat zur Seite stand.

Besonderen Dank schulde ich Frau Dr. K. Maurer für die Durchsicht meiner Arbeit und die vielen Hinweise, die zur Vollendung derselben notwendig waren.

Ebenso danke ich Frau Dr. M. Semmler-Schmetz von der Bibliothek des Klinikums Mannheim, die mir in geduldigster Weise Hilfe zu Zitierweisen und Literatur sowie wichtige sachliche Hinweise gab.